Buku Teks Bahan Ajar Siswa

Paket Keahlian:
Pengawasan Mutu Hasil Pertanian dan Perikanan

Dasar Pengendalian Mutu Hasil Pertanian dan Perikanan



KELAS
X
SEMESTER 2

Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan
Republik Indonesia

KATA PENGANTAR

Kurikulum 2013 dirancang untuk memperkuat kompetensi siswa dari sisi sikap, pengetahuan dan keterampilan secara utuh. Keutuhan tersebut menjadi dasar dalam perumusan kompetensi dasar tiap mata pelajaran mencakup kompetensi dasar kelompok sikap, kompetensi dasar kelompok pengetahuan, dan kompetensi dasar kelompok keterampilan. Semua mata pelajaran dirancang mengikuti rumusan tersebut.

Pembelajaran kelas X dan XI jenjang Pendidikan Menengah Kejuruhan yang disajikan dalam buku ini juga tunduk pada ketentuan tersebut. Buku siswa ini diberisi materi pembelajaran yang membekali peserta didik dengan pengetahuan, keterampilan dalam menyajikan pengetahuan yang dikuasai secara kongkrit dan abstrak, dan sikap sebagai makhluk yang mensyukuri anugerah alam semesta yang dikaruniakan kepadanya melalui pemanfaatan yang bertanggung jawab.

Buku ini menjabarkan usaha minimal yang harus dilakukan siswa untuk mencapai kompetensi yang diharuskan. Sesuai dengan pendekatan yang digunakan dalam kurikulum 2013, siswa diberanikan untuk mencari dari sumber belajar lain yang tersedia dan terbentang luas di sekitarnya. Peran guru sangat penting untuk meningkatkan dan menyesuaikan daya serp siswa dengan ketersediaan kegiatan buku ini. Guru dapat memperkayanya dengan kreasi dalam bentuk kegiatan-kegiatan lain yang sesuai dan relevan yang bersumber dari lingkungan sosial dan alam.

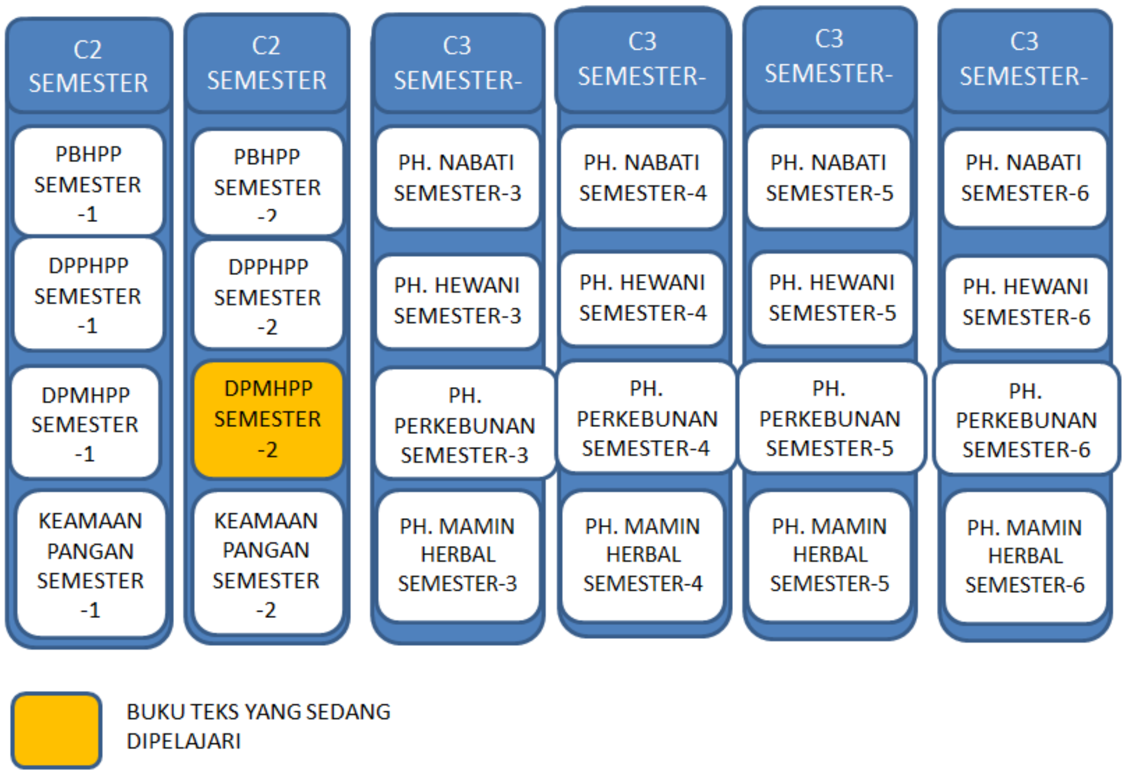
Buku ini sangat terbuka dan terus dilakukan perbaikan dan penyempurnaan. Untuk itu, kami mengundang para pembaca memberikan kritik, saran, dan masukan untuk perbaikan dan penyempurnaan. Atas kontribusi tersebut, kami ucapkan terima kasih. Mudah-mudahan kita dapat memberikan yang terbaik bagi kemajuan dunia pendidikan dalam rangka mempersiapkan generasi seratus tahun Indonesia Merdeka (2045).

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR TABEL

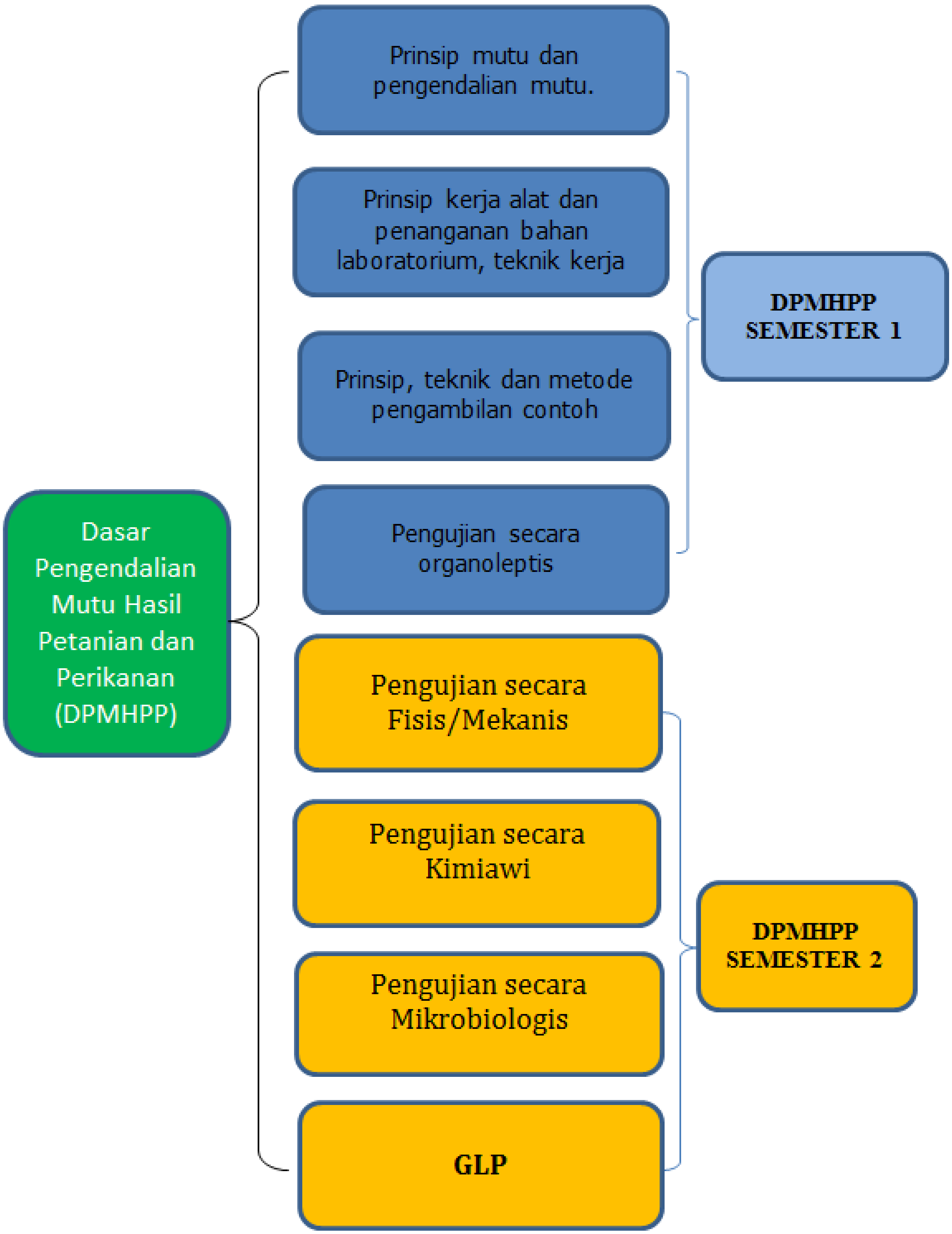
PETA KEDUDUKAN BAHAN AJAR



Keterangan :

PBHPP	: Pengetahuan Bahan Hasil Pertanian dan Perikanan
DPPHPP	: Dasar Proses Pengolahan Hasil Pertanian dan Perikanan
DPMHPP	: Dasar Pengendalian Mutu Hasil Pertanian dan Perikanan
PH. Nabati	: Produksi Hasil Nabati
PH. Hewani	: Produksi Hasil Hewani
PH. Perkebunan	: Produksi Hasil Perkebunan
PH. Mamin Herbal	: Produksi Makanan dan Minuman Herbal

Peta Kompetensi yang ada didalam buku teks bahan ajar siswa semester 2, apabila dilhat dari mata pelajaran Dasar Pengendalian Mutu Hasil Pertanian dan Perikanan pada Program Studi Agribisnis Hasil Pertanian dan Perikanan adalah seperti pada gambar berikut:


Prinsip mutu dan pengendalian mutu.
Prinsip kerja alat dan penanganan bahan laboratorium, teknik kerja
Prinsip, teknik dan metode pengambilan contoh
Pengujian secara organoleptis
DPMHPP SEMESTER 1
Dasar Pengendalian Mutu Hasil Petanian dan Perikanan (DPMHPP)
Pengujian secara Fisis/Mekanis
Pengujian secara Kimiawi
Pengujian secara Mikrobiologis
GLP
DPMHPP SEMESTER 2

GLOSARIUM

Adsorpsi	:	Serapan partikel pada permukaan zat lain
Alkohol	:	Nama lain dari etil alkohol atau etanol
Asam	:	Mempunyai rasa masam, bersifat elektrolit, dan bereaksi denganlogam aktif, karbonat dan basa.
Asam kuat	:	Asam yang terionisasi 100% dalam air
Asam lemah	:	asam yang tidak terionisasi secara signifikan dalam larutan
Atom	:	Partikel terkecil dari suatu unsur yang masih mempunyai sifat kimia unsur itu
Basa kuat	:	jenis senyawa sederhana yang dapat mendeprotonasi asam sangat lemah di dalam reaksi asam-basa
Basa	:	Mempunyai rasa pahit, licin, bersifat elektrolit, dan bereaksi Dengan asam
Bentuk molekul	:	Susunan atom-atom yang teratur menurut pola-pola tertentu
Campuran	:	Gabungan beberapa zat tanpa melalui reaksi kimia
Celcius	:	Satuan suhu, dalam sistem skala suhu menurut Celcius ini, es mencair mempunyai suhu 0° dan uap air mendidih pada tekanan 1 atmosfer mempunyai suhu 100°
Densitas	:	Ukuran kerapatan suatu zat yang dinyatakan banyaknya zat (massa) per satuan volume.
Destilasi	:	Pemisahan campuran berdasarkan perbedaan titik didih zat - zat penyusunnya
Destruksi	:	Perlakuan pendahuluan terhadap sampel sebelum dianalisa zatnya, seperti kandungan logam
Energi	:	Kemampuan untuk melakukan usaha.
Enzim	:	Protein yang dikhususkan untuk mengkatalisis reaksi metabolit tertentu
Fermentasi	:	proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen)
Filtrat	:	Hasil saringan, zat cair yang sudah melewati penyaring
Fotosintesis	:	Proses pembentukan karbohidrat dari karbon dioksida (CO_2) dan air (H2O) dengan bantuan sinar matahari

Gerak	:	Menyatakan perubahan posisi atau kedudukan terhadap titik acuan
GLP (Good Laboratory Practice)	:	Keterpaduan suatu proses organisasi, fasilitas, personel dan kondisi lingkungan laboratorium yang benar sehingga menjamin pengujian di laboratorium selalu direncanakan, dilaksanakan, dimonitor, direkam, dan dilaporkan sesuai dengan persyaratan kesehatan dan keselamatan serta perdagangan
Hidrolisis	:	Reaksi antara air dengan ion-ion yang berasal dari asam lemah atau basa lemah dari suatu garam
Higroskopis	:	sifatzat menyerap molekul air dari lingkungannya baik absorbsi atau adsorpsi
Homogen	:	Zat yang seluruh partikelnya berada dalam fasa yang sama, misalnya larutan (sifat fisis dan kimia keseluruhan sama)
Ikatan hidrogen	:	Gaya tarik-menarik dipol-dipol dengan kekuatan besar, ikatan itu terjadi jika molekul polar mengandung satu atom hydrogen terikat pada atom yang sangat elektronegatif, misalnya F, O, dan N
Indikator	:	Zat yang dapat digunakan untuk menunjukkan sifat atau keberadaan suatu zat melalui perubahan warnanya yang khas
Ion	:	Atom yang bermuatan
Kalibrasi	:	Proses verifikasi bahwa suatu akurasi alat ukur sesuai dengan rancangannya
Karbon	:	Ikatan antara atom C yang satu dengan atom C yang lain
Katalis	:	Zat yang dapat mempercepat jalannya reaksi
Kecepatan	:	Merupakan kelajuan yang disertai arah
Kelarutan	:	Jumlah maksimum zat yang dapat larut dalam sejumlah pelarut (satuan gl^{-1} atau mol^{-1})
Koagulasi	:	Penggumpalan partikel koloid sehingga jatuh ke dasar bejana
Kondensasi	:	Sistem pembuatan koloid berdasarkan pengelompokan (agegasi) partikel larutan sejati
Laboratorium	:	Tempat riset ilmiah, eksperimen, pengukuran dan ataupun pelatihan ilmiah
Lakmus	:	Pigmen biru yang diperoleh dari sejenis tumbuhan lumut;

		berwarna biru dalam suasana (larutan) basa dan berwarna merah dalam suasana (larutan) asam
Larutan buffer	:	Larutan yang dapat mempertahankan ph pada kisarannya jika ada upaya untuk menaikan atau menurunkan ph
Lingkungan	:	Bagian di luar sistem
Massa	:	Jumlah materi yang terkandung dalam masing-masing benda
Mikroba	:	Organisme kecil (termasuk virus dan bakteri) yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop
Mineral	:	Zat atau campuran zat yang ditemukan di bumi yang terbentuk secara alami dan diperoleh manusia dari bawah tanah/daratan/lautan, contohnya magnesium (Mg), besi (Fe), dankalsium karbonat ($CaCO_3$)
Oksigen	:	Gas yang dibutuhkan hewan saat bernapas
Oksida	:	Kelompok senyawa yang terbentuk antara suatu unsur dengan oksigen
Pangan	:	Segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun yang tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan ataupun minuman bagi konsumsi manusia
Patogen	:	Agen biologis yang menyebabkan penyakit pada inangnya
pH	:	Suatu zat yang diperoleh dari hasil negatif logaritma 10 dari kemolaran ion H^+
Reagen	:	bahan kimia dasar yang akan digunakan dalam sebuah reaksi kimia
Reaksi kimia	:	Suatu proses dimana zat-zat baru yaitu hasil reaksi, terbentuk dari beberapa zat aslinya, yang disebut pereaksi. Biasanya, suatu reaksi kimia disertai oleh kejadian-kejadian fisis, seperti perubahan warna, pembentukan endapan, atau timbulnya gas
Reaktan	:	Zat-zat yang bereaksi
Residu	:	Sisa hasil saringan, zat yang tertinggal di kertas saring (penyaring)
Senyawa	:	Penggabungan dua atau lebih unsur yang sejenis maupun berlainan jenis yang membentuk satu kesatuan sehingga memiliki sifat yang berbeda dengan unsur-unsur penyusunnya
Sistem	:	Bagian tertentu dari alam yang menjadi pusat perhatian

Spora	:	Satu atau beberapa sel (bisa haploid ataupun diploid) yang terbungkus oleh lapisan pelindung
Suhu	:	Ukuran tingkat atau derajat panas atau dingin-nya suatu benda
Suspensi	:	Partikel-partikel zat yang berukuran lebih besar dari koloid yang tersebar dalam zat lain
Titik didih	:	Suhu di mana tekanan uap yang meninggalkan cairan sama dengan tekanan luar
Titrasi	:	Rosedur analitis kuantitatif dengan mengukur jumlah larutan yang diperlukan untuk bereaksi tepat sama dengan larutan lain
Unsur	:	Zat yang tidak dapat diuraikan lagi menjadi zat baru yang lebih sederhana baik dengan cara fisik maupun kimia, dan unsur memiliki ciri khas terhadap sifat kimianya
Validasi metode	:	Konfirmasi dengan cara menguji suatu metode dan melengkapi bukti-bukti yang objektif apakah metode tersebut memenuhi persyaratan yang ditetapkan dan sesuai tujuan tertentu
Viskositas	:	Atau kekentalan, yaitu ukuran ketahanan zat cair untuk mengalir
Volume	:	Besarnya ruangan yang dapat diisi oleh materi
Zat terlarut	:	Zat yang larut dalam pelarut untuk membentuk suatu larutan

I. PENDAHULUAN

A. Deskripsi

1. Rasional

Tuhan Yang Maha Esa memberikan nikmatNya kepada bangsa dan negara Indonesia dengan melimpahkan beraneka ragam hasil pertanian yang dapat digali dari alamnya yang kaya, subur makmur, gemah ripah loh jinawi. Nikmat yang dilimpahkan Tuhan tersebut seyogyanya kita syukuri dengan melakukan pengelolaan alam termasuk tanaman dan hewan yang terkandung di dalamnya serta pengelolaan dan peningkatan daya guna hasil pertanian yang diperoleh dari dalamnya. Dengan demikian manusia dapat menikmati hasil sesuai dengan yang diharapkan baik dalam segi jumlah (kwantitas) maupun segi mutunya (kwalitas).

Untuk mengetahui apakah mutu suatu bahan hasil pertanian yang diproduksi termasuk hasil olahannya memenuhi persyaratan-persyaratan pada batas toleransi ataukah tidak dilakukan pengujian atau pemeriksaan terhadap faktor penentu mutunya.

Mata pelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan di semester 2 merupakan kumpulan bahan kajian dan pembelajaran tentang, pengujian hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis dan mikrokomponen, pengujian hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi, pengujian hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis, melaksanakan prinsip kerja laboratorium yang baik/Good Laboratory Practice (GLP)

2. Tujuan

Mata pelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan bertujuan untuk:

a. Menyadari kebesaran Tuhan yang menciptakan bumi dan seisinya khususnya tumbuhan dan hewan sebagai hasil pertanian dan perikanan yang dimanfaatkan manusia sebagai kebutuhan pokok untuk tumbuh dan berkembang;
b. Menunjukkan perilaku ilmiah (memiliki rasa ingin tahu; objektif; jujur; teliti; cermat; tekun; ulet; hati-hati; bertanggung jawab; terbuka; kritis; kreatif; inovatif dan peduli lingkungan) dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi sikap ilmiah dalam melakukan percobaan dan berdiskusi;
c. Menghargai kerja individu dan kelompok dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melaksanakan percobaan dan melaporkan hasil percobaan;
d. Memupuk sikap ilmiah yaitu jujur, obyektif, terbuka, ulet, kritis dan dapat bekerjasama dengan orang lain;
e. Mengembangkan pengalaman menggunakan metode ilmiah untuk merumuskan masalah, mengajukan dan menguji hipotesis melalui percobaan, merancang dan merakit instrumen percobaan, mengumpulkan, mengolah, dan menafsirkan data, serta mengkomunikasikan hasil percobaan secara lisan dan tertulis;
f. Menguasai konsep dan dan mampu menerapkan prinsip mutu dan menganalisis faktor mutu serta mempunyai keterampilan mengembangkan pengetahuan dan sikap percaya diri sebagai bekal kesempatan untuk melanjutkan pendidikan pada jenjang yang lebih tinggi serta mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang pengendalian mutu industri pertanian.

3. Ruang Lingkup Materi

a. Pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis
b. Pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi
c. Pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis
d. Melaksanakan prinsip kerja laboratorium yang baik/Good Laboratory Practice (GLP)

4. Prinsip-prinsip Belajar, Pembelajaran, dan Asesmen

a. Prinsip-prinsip Belajar

- Berfokus pada siswa (student center learning),
- Peningkatan kompetensi seimbang antara pengetahuan, ketrampilan dan sikap
- Kompetensi didukung empat pilar yaitu : inovatif, kreatif, afektif dan produktif

b. Pembelajaran

- Mengamati (melihat, mengamati, membaca, mendengar, menyimak)
- Menanya (mengajukan pertanyaan dari yang factual sampai ke yang bersifat hipotesis
- Pengumpulan data (menentukan data yang diperlukan, menentukan sumber data, mengumpulkan data
- Mengasosiasi (menganalisis data, menyimpulkan dari hasil analisis data)
- Mengkomunikasikan (menyampaikan hasil konseptualisasi dalam bentuk lisan, tulisan diagram, bagan, gambar atau media)

c. Penilaian/asesmen

- Penilaian dilakukan berbasis kompetensi,
- Peniaian tidak hanya mengukur kompetensi dasar tetapi juga kompetensi inti dan standar kompetensi lulusan.

Mendorong pemanfaatan portofolio yang dibuat siswa sebagai instrument utama penilaian kinerja siswa pada pembelajaran di sekolah dan industry.

Penilaian dalam pembelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan ini dapat dilakukan secara terpadu dengan proses pembelajaran. Aspek penilaian pembelajaannya meliputi hasil belajar dan proses belajar siswa. Penilaian dapat dilakukan dengan menggunakan tes tertulis, observasi, tes praktik, penugasan, tes lisan, portofolio, jurnal, inventori, penilaian diri, dan penilaian antarteman. Pengumpulan data penilaian selama proses pembelajaran melalui observasi juga penting untuk dilakukan. Data aspek afektif seperti sikap ilmiah, minat, dan motivasi belajar dapat diperoleh dengan observasi, penilaian diri, dan penilaian antar teman.

B. Prasyarat

Untuk memperlajari dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan pada buku teks bahan ajar siswa semester 2 , peserta didik dipersyaratan telah mempelajari dasan pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan pada buku teks bahan ajar siswa semester 1.

C. Petunjuk Penggunaan Buku Teks Bahan Ajar Siswa

1. Buku teks bahan ajar siswa dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan terdiri dari 2 buku, yaitu dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan semester 1 dan dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan semester 2
2. Buku teks bahan ajar semester 2 terdiri dari empat kompetensi dasar
3. Sebelum memulai belajar, isilah ceklist kemampuan awal
4. Mulailah belajar dengan kompetensi dasar yang pertama dan seterusnya

5. Apabila telah selesai mempelajari uraian atau lembar informasi, lanjutkan dengan lembar kerja/tugas
6. Apabila telah selesai mempelajari lember informasi dan lembar kerja pada setiap kompetentensi dasar (KD), cek kemampuan anda dengan mengerjakan lembar penilaian dalam bentuk pengisian lembar refleksi dan tes formatif,
7. Setelah selesai belajar semua kompetensi dasar dalam satu semester kerjakan lembar penilaian akhir semester.
8. Apabila anda merasa belum berhasil dan atau hasil penilaian akhir semester masih kurang dari 70, pelajari kembali materi yang merasa masih kurang

D. Tujuan Akhir Pembelajaran

Setelah mempelajari buku teks bahan ajar siswa ini peserta didik mampu :

1. Melakukan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis
2. Melakukan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi
3. Melakukan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis
4. Melaksanakan prinsip kerja laboratorium yang baik/Good Laboratory Practice (GLP)

E. Cek Kemampuan Awal

Jawablah pertanyaan berikut dengan memberi tanda "√" pada kolom "sudah" atau "belum".

No	Pertanyaan	Sudah	Belum
1	Apakah anda sudah menerapkan pengujian hasil pertanian dan perikanan menggunakan alat fisik		
2	Apakah anda sudah menerapkan pengujian nilai-nilai ukuran bahan hasil pertanian dan perikanan		
3	Apakah anda sudah menerapkan pengujian sifat khusus komoditas hasil pertanian dan perikanan		
4	Apakah anda sudah menerapkan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara thermometri/gravimetri.		

5	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan karbohidrat pada hasil pertanian dan perikanan		
6	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan protein		
7	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan lemak dan kualitasnya		
8	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan air		
9	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan abu		
10	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan karbohidrat		
11	Apakah anda sudah menerapkan pengujian kandungan protein		
12	Apakah anda sudah menerapkan penyiapan larutan contoh uji mikrobiologis sistem pengenceran		
13	Apakah anda sudah menerapkan sterilisasi alat-alat dan perkakas yang digunakan dalam pengujian bahan hasil pertanian secara mikrobiologis		
14	Apakah anda sudah menerapkan pembuatan media pertumbuhan mikroba		
15	Apakah anda sudah menerapkan inokulasi larutan contoh ke dalam media pertumbuhan		
16	Apakah anda sudah menerapkan pengamatan hasil pengujian secara mikrobiologis		
17	Apakah anda sudah menerapkan pengolahan data hasil pengujian bahan hasil pertanian secara mikrobiologis.		
18	Apakah anda sudah menerapkan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen mutu di laboratorium.		
19	Apakah anda sudah menerapkan pengetahuan dan pemahaman GLP.		
20	Apakah anda sudah menerapkan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025		
21	Apakah anda sudah menerapkan penilaian tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP		
22	Apakah anda sudah menerapkan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium		

Keterangan :

a. Apabila jawaban “sudah” minimal 24 item (lebih dari 70%), maka anda sudah bisa langsung mengerjakan evaluasi.

b. Apabila jawaban “sudah” kurang dari 20 (kurang dari 70%), maka anda harus mempelajari buku teks terlebih dahulu.

F. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
1. Menghayati dan mengamalkan ajaran agama yang dianutnya	1.1 Meyakini anugerah Tuhan pada pembelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan sebagai amanat untuk kemaslahatan umat manusia.
2. Menghayati perilaku (jujur, disiplin, tanggungjawab, peduli, santun, ramah lingkungan, gotong royong, kerjasama, cinta damai, responsive dan pro-aktif) dan menunjukan sikap sebagai bagian dari solusi atas berbagai permasalahan bangsa dalam berinteraksi secara efektif dengan lingkungan social dan alam serta dalam menempatkan diri sebagai cerminan bangsa dalam pergaulan dunia.	2.1. Menunjukkan perilaku ilmiah (memiliki rasa ingin tahu; objektif; jujur; teliti; cermat; tekun; hati-hati; bertanggung jawab; terbuka; kritis; kreatif; inovatif dan peduli lingkungan) dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi sikap dalam melakukan percobaan dan berdiskusi 2.2. Menunjukkan sikap santun, responsif dan pro-aktif dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melakukan diskusi 2.3. Menghargai kerja individu dan kelompok dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melakukan percobaan dan melaporkan hasil percobaan
3. Memahami, menganalisis, menerapkan dan mengevaluasi pengetahuan faktual, konseptual, dan procedural dalam ilmu pengetahuan, teknologi, seni, budaya, dan humaniora dengan wawasan kemanusiaan, kebangsaan, kenegaraan, dan peradaban terkait penyebab fenomena dan kejadian dalam bidang kerja yang spesifik untuk memecahkan masalah	3.5 Menerapkan prinsip pengujian hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis dan mikro komponen 3.6 Menerapkan prinsip pengujian hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi 3.7 Menerapkan prinsip pengujian hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis 3.8 Menerapkan cara menerapkan prinsip kerja laboratorium yang baik/Good Laboratory Practice (GLP) Ketentuan umum dan organisasi GLP

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
4 Mengolah, menalar, dan menyaji dalam ranah konkret dan ranah abstrak terkait dengan pengem bangan dari yang dipelajarinya di sekolah secara mandiri, dan mampu melaksanakan tugas spesifik di bawah pengawasan langsung	4.5 Melaksanakan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis dan mikrokomponen 4.6 Melaksanakan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi 4.7 Melaksanakan pengujian hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis 4.8 Menalar dan melaksanakan prinsip kerja GLP

II. PEMBELAJARAN

Kegiatan Pembelajaran 1. Pengujian Hasil Pertanian Dan Perikanan Secara Fisis-Mekanis

A. Deskripsi

Pengujian hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis merupakan salah satu kompetensi dasar kejuruan dari mata pelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan peserta didik SMK pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan. Kompetensi dasar ini merupakan dasar kejuruan pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan yang bertujuan untuk memantapkan pemahaman fakta, konsep, prinsip dan prosedur serta metakognitif mengenai pengujian hasil pertanian dan perikanan secara fisis-mekanis. Pelaksanaannya meliputi langkah-langkah pembelajaran mengamati, menanya, mengeksplorasi keterampilan proses dalam bentuk eksperimen, mengasosiasi, dan mengkomunikasikan hasil pengamatan dan percobaan, kesimpulan berdasarkan hasil pengamatan/analisis secara lisan, tertulis, atau media lainnya. Media yang digunakan meliputi alat dan bahan praktikum serta in focus. Penguasaan materi peserta didik dievaluasi melalui sikap, pengetahuan dan keterampilan.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah menyelesaikan pembelajaran ini, peserta didik diharapkan mampu:

a. Melakukan dasar pengujian hasil pertanian dan perikanan menggunakan alat fisik

b. Melakukan dasar pengujian nilai-nilai ukuran bahan hasil pertanian dan perikanan
c. Melakukan dasar pengujian sifat khusus bahan hasil pertanian dan perikanan
d. Melakukan dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara thermometri /gravimetri.

2. Uraian Materi

a. Pengujian Hasil Pertanian dan Perikanan Menggunakan Alat Fisik

Pengujian Bahan Hasil Pertanian Secara Fisis seperti yang telah diuraikan diatas meliputi: Penampakan warna dan identitas, jenis pengujian ini pada dasarnya bisa dilakukan dengan uji indrawi/organoleptik tapi bisa juga uji secara kulitatif terutama untuk warna pada makanan dan minuman dengan metode kromatografi kertas menggunakan benang wol. Masing-masing pengertian ruang lingkup jenis pengujian tersebut dapat dipelajari sebagai berikut:

1) Penampakan

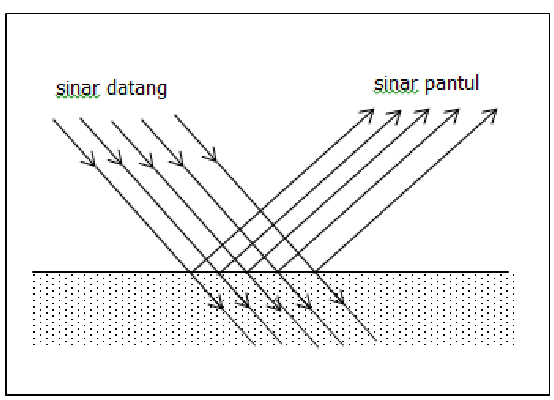
Penampakan ialah parameter mutu suatu bahan atau produk dimana apabila ditujukan untuk pengujian komoditas hasil pertanian merupakan hal penting yang tidak bisa diabaikan, penampakan biasanya pengujiannya dilakukan dengan uji organoleptik/uji indrawi yang meliputi, kilap, suram, jernih, bening, dan lain-lain.

Kilap juga disebut mengkilap (glossy, shiny). Lawan dari kilap ialah kusam atau suram. Kilap dan suram adalah sifat permukaan. Kulit buah jeruk disebut mengkilap jika permukaan itu berkilau-kilau kena cahaya. Sebaliknya permukaan mata ikan yang mulai membusuk menjadi kusam atau suram. Kilap dihasilkan dari pantulan sinar tidak sempurna, tetapi

searah pada permukaan benda. Arah sudut sinar pantul sama dengan sudut normal atau arah sudut dari sinar datang tetapi berlainan arah (Gambar 1). Makin mendekati kesempurnaan sinar pantul makin mengkilap permukaannya. Tetapi pantulan sinar yang sempurna mendekati 100%, akan menghasilkan pantulan sebagai cermin. Permukaan suram terjadi jika hanya sebagian kecil dari sinar datang yang dipantulkan sedang sebagian besar diserap. Sinar pantul yang hanya dipengaruhi oleh permukaan benda dan tidak dipengaruhi oleh warna benda. Karenanya sifat mengkilap dapat terjadi di sembarang warna, demikian pula keadaan kusam.

a) Kilap pada Kulit Buah

Beberapa buah-buahan mempunyai permukaan kulit yang mengkilap dan menarik. Karenanya produsen atau pemasar buah-buahan berusaha untuk membuat kulit buah itu selalu mengkilap untuk menarik konsumen. Buah jeruk yang cukup tua permukannya mengkilap dan mempunyai kesan buah jeruk itu manis dan menarik. Buah jeruk muda permukaannya agak kusam dan kurang menarik. Permukaannya dapat dibuat mengkilap dan menarik dengan cara buah itu dilap atau digosok dengan kain. Demikian juga halnya pada buah-buahan lain seperti apel, kesemek, salak.



Gambar 1. Sinar Pantul yang Menghasilkan Permukaan Mengkilap

Sawo yang baru dipetik sangat kusam permukaannya. Untuk mendapatkan permukaan yang agak mengkilap cukup hanya dengan melap buah, tetapi perlu digosok sehingga permukaan yang kasar menjadi halus dan licin. Pada permukaan buah sawo terdapat partikel-partikel bahan sejenis gabus yang melekat pada permukaan buah. Setelah digosok, dicuci dan dilap barulah permukaan buah sawo akan menjadi licin dan agak mengkilap.

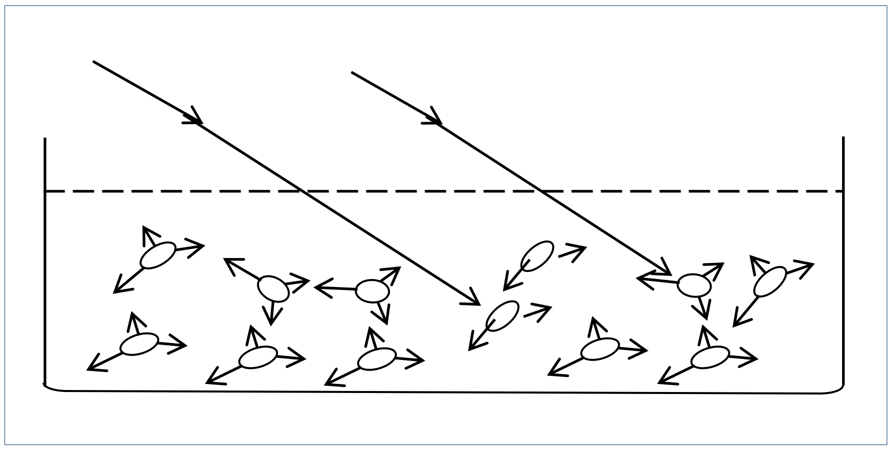
Kilap pada permukaan buah-buahan dan komoditas lain umumnya disebabkan oleh lapisan lilin atau bahan berminyak pada permukaan kulit luar. Secara alami lapisan lilin di permukaan buah-buahan terdiri dari dua lapis lilin yaitu lapisan lilin yang rata dan keping-keping lilin (platelets) yang melekat di permukaan kulit buah. Kedua lapisan dipermukaan itu berfungsi melindungi buah. Lapisan lililn pada permukaan kulit buah dapat hilang karena terkikis atau dicuci dengan detergen kuat.

Pada buah-buahan yang susah menjadi mengkilap kadang-kadang dibuat menjadi mengkilap dengan menggunakan kain kering yang dibasahi dengan lilin cair atau minyak. Perbuatan ini memang akan menghasilkan permukaan buah yang kelihatan mengkilap tetapi sama sekali tidak merubah mutu dalam atau mutu asli dari buah tersebut. Di pasaran sering terdapat buah jeruk yang kelihatan menarik karena mengkilap, ternyata jika dikupas rasanya sangat masam karena memang buah jeruk itu masih dan aslinya tidak mengkilap. Tetapi buah itu dibuat mengkilap dengan cara menggosok dengan minyak atau lilin cair.

b) Sifat Keruh

Keruh dihasilkan dari pantulan sinar masuk yang setelah masuk dalam benda dipantulkan secara acak, tidak searah. Di dalam benda

tersebut terdapat partikel-partikel yang jika menerima sinar lalu dipantulkan keluar secara difus menebus permukaan benda (Gambar 2) partikel-partikel tersebut dalm benda itu tidak teratur bentuknya atau berbentuk bulat. Karena sinar pantulnya menuju ke semua arah (difus).



Gambar 2. Sinar yang Menghasilkan Keruh

Jadi mekanisme keruh ialah (1) sinar dapat masuk menembus benda, (2) sinar ditahan oleh partikel-partikel yang melayang atau menetap dalam benda itu dan (3) partikel-partikel tersebut karena bentuknya memantulkan sinar secara difus.

Keruh tidak ada sangkut pautnya dengan warna. Keruh dapat terjadi dengan warna putih, kuning, merah, abu dan coklat. Pada beberapa cairan seperti cucian beras, santan, susu, cairan dari parutan ubi kayu, keruhnya berwarna putih bersih. tetapi minuman sari buah seperti jeruk, markisa dan nenas, keruhnya berwarna kuning. Saus tomat, minuman wortel dan saus lombok, keruhnya berwarna merah. Nira, tebu, keruhnya berwarna abu-abu.

Pada beberapa produk keruh dikehendaki misalnya markisa, jus jeruk, jus jam jambu biji, jus nenas. Beberapa minuman tidak

kehendaki misalnya, sirup, teh botol, "soft drink" pada minyak goreng keruh tidak dikehendaki. Jadi keruh adalah bukann sifat permukaan melainkan sifat benda bagian dalam yang dapat ditembus sinar (transparan). Banyak komoditas mempunyai sifat keruh (Tabel 1).

Tabel 1. Macam-macam Komoditas yang Dapat Bersifat Keruh.

Bentuk Komoditas	C o n t o h
Cairan	Minuman buah, minyak goreng, sirup, limun, kecap
Jelly	Agar-agar
Mie	Mihun, soun
Butir	Sagu mutiara, beras dengan butir kapur

c) Sifat Bening

Lawan dari keruh adalah bening. Bening dihasilkan dari sinar yang tembus langsung, tidak ada gangguan selama melalui produk. Di dalam produk tersebut tidak terdapat partikel-partikel baik yang menetap ataupun yang melayang-layang. Jadi mekanisme bening ialah (1) sinar dapat menembus dan (2) sinar tidak ditahan oleh partikel-partikel.

Bening tidak selalu tidak berwarna. Teh bening berwarna ciklat. Demikian juga bir bening tanpa busa berwarna coklat. Banyak minuman yang lain yang mempunyai warna misalnya coca cola, bir merah, arak hitam, brem bali. Komoditas lain yang bening dan berwarna ialah sirup warna. Produk yang bening tidak berwarna disebut jernih atau bening kristal, contohnya air bersih, air soda, "sprite".

Tabel 2. Beberapa Produk Bening Berwarna dan Tanpa Warna

Bentuk Produk	Bening Berwarna	Jernih
Minuman	Bir, teh botol	Air soda, sprite", wiski
Cairan kental	Madu	Sirup putih
Wadah	Botol berwarna	Botol putih
Lembaran	Plastk berwarna	Kantong plastik

2) Warna dan Identitas

Warna mempunyai arti dan peranan yang sangat penting pada komoditas pangan dan hasil pertanian lainnya. Peranan itu sangat nyata pada 3 hal yaitu daya tarik, tanda pengenal dan atribut mutu. Diantara sifat-sifat produk pangan yang paling menarik perhatian pada konsumen dan paling cepat pula memberi kesan disukai atau tidak adalah sifat warna. Warna mempunyai banyak arti dan peranan pada produk pangan, di antaranya sebagai perinci jenis, tanda-tanda pematangan bauh, tanda-tanda kerusakan, petunjuk tingkat mutu, pedoman proses pengolahan dan masih banyak lagi peranan.

a) Penciri Jenis dan Pengenalan Mutu (Identitas)

Banyak jenis produk pangan, terutama produk primer dari hasil pertanian, mempunyai ciri-ciri khas dari warnanya. Jenis produk seperti telur ayam, bebek, mentok, puyuh atau burung-burung lain mudah dan cepat dikenali dari warnanya. Demikian pula jenis atau varietas buah-buahan seperti apel malang, simanalagi, Mc Kintosh, atau Red Delicious dapat dikenali dari warna kulit buahnya yang khas.

Tanda-tanda tua dan kematangan pada bentuk jenis buah-buahan seperti pisang, rambutan, pepaya, mangga dan lain-lain juga menggunakan warna sebagai kriterianya. Beberapa produk olahan Industrijuga menggunakan warna sebagai identitas produknya

seperti pada minuman coca cola (amber hitam), sari jeruk (warna oranye), teh botol (amber merah), saus tomat (merah). Beberapa produk kemasan menggunakan warna kemasan untuk mencirikan produk atau mereknya.

Di samping karena daya tarik dan identitas produk warna juga berperan sebagai kriteria mutu yang sangat penting pada beberapa jenis produk. Pada produk pangan tepung-tepungan seperti terigu, tepung beras, tapioka, tepung susu, pati sagu dan pati lainnya, warna putih digunakan sebagai kriteriamutu yang sangat penting. Penyimpangan dari warna putih dinilai sangat menurunkan mutu.

b) Keseragaman Warna

Beberapa produk alami mempunyai citra warna yang khas seperti tomat dan lombok berwarna merah, buah pisang raja berwarna oranye, daging sapi berwarna merah pink. Namun dalam produk kadang-kadang dihailkan produk yang warnanya kurang khas atau kurang merata, sehingga terjadi keragaman warna. Untuk mendapatkan citra warna yang khas seragam perusahaan melakukan berbagai usaha, diantaranya dengan menambah zat warna. Tujuannya ialah agar dapat (1) lebih mempertajam warna dan (2) membuat warna menjadi seragam atau konsisten dari waktu ke waktu. Contohnya ialah beberapa produk olahan seperti sosis dan saus tomat ditambah zat warna merah, keju mentega dan margarin ditambah zat warna kuning, sari buah anggur ditambah zat warna violet, sari buah jeruk ditambah warna oranye.

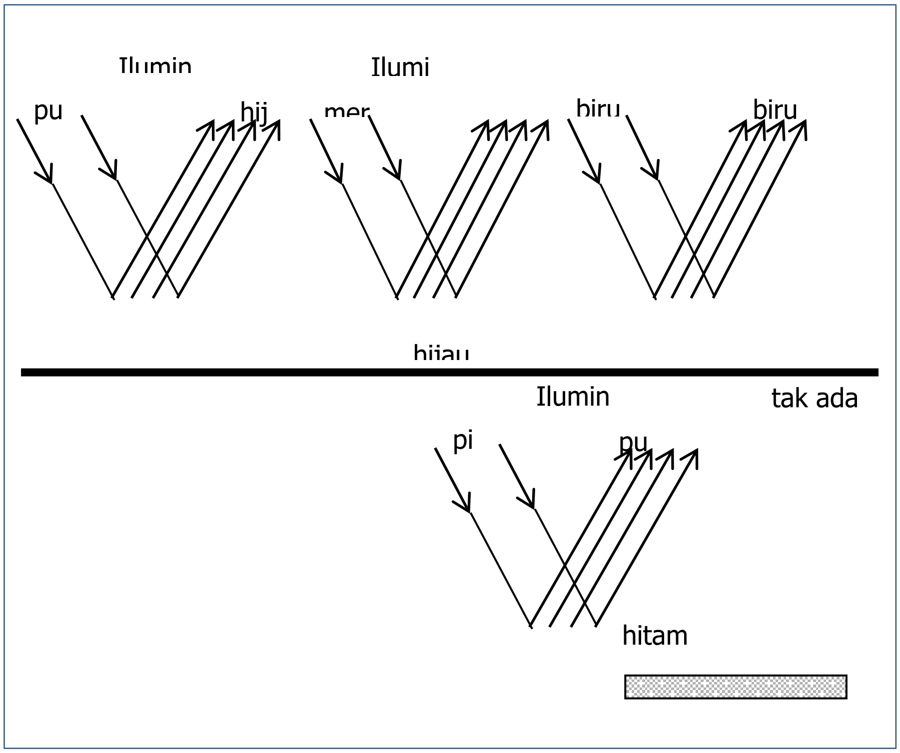
c) Sifat Warna

Warna merupakan sifat produk yang dapat dipandang sebagai sifat fisik (obyektif) dan sifat organoleptik (subyektif). Sementara itu

sebagai gejala lain warna mempunyai fenomena psikologik yang tunduk dengan sifat-sifat manusiawi. Karena memiliki dua macam fenomena itu maka warna produk pangan juga di ukur atau dianalisa secara obyektif dengan instrumen fisik dan secara organoleptik atau subyektif dengan instrumen manusia.

Warna suatu benda ditentukan oleh 4 hal yaitu (1) adanya sinar sebagai sumber penerangan yang menyinari benda, (2) sifat-sifat absorpsi dan refleksi spektral dari benda yang disinari, (3) kondisi lingkungan benda dan (4) kondisi subyek yang melihat benda.

Jika sumber iluminasi menggunakan cahaya berwarna maka warna objek akan mengalami perubahan. Misalnya warna kulit alpukat yang hijau akan berubah menjadi warna kuning jika alpukat itu mendapat iluminasi berwarna merah, akan menjadi biru sian jika kena cahaya biru, akan akan berwarna hijau muda jika kena cahaya kuning, dan akan menjadi putih jika kena cahaya magenta atau pink. Kulit alpukat itu akan tampak hijau jika sinar iluminannya ialah sinar putih atau cahaya yang amat terang. Dari macam-macam kulit alpukat itu hanya ada satu yang disebut warna asli, yaitu warna hikau, sedangkan warna lain-lainnya adalah warna semu (Gambar 3).



Gambar 3. Macam-macam Penampakan Warna (Sinar Pantul) dari Satu Benda Hijau Akibat Iluminan yang Berbeda (Sinar Datang)

Warna asli suatu produk hanya akan tampak jika produk itu mendapat penerangan cahaya terang benderang atau mendapat cahaya putih, sebaliknya jika tidak mendapat cahaya yang memadai akan didapatkan warna semu. Adanya fenomena warna asli dan warna semu ini penting diketahui oleh para pemeriksa mutu (inspektor)

d) Penilaian dan Pengukuran Warna

Warna membuat produk pangan menarik. Bagi makanan warna merupakan daya tarik utama sebelum konsumen mengenal dan menyukai sifat-sifat lainnya. Jagung rebus yang berwarna kuning akan lebih menarik daripada yang berwarna putih, buah tomat berwarna merah merata lebih disukai daripada warna belang merah hijau. Demikian pula buah jeruk dengan warna kuning oranye lebih

disenangi daripada berwarna merah atau hijau. Dalam klasifikasi mutu tanda-tanda dan kriteria ketuaan atau kematangan buah seperti pada buah mangga, rambutan, pisang, dan lain-lain.

Warna asli suatu produk hanya akan tampak jika produk itu mendapat penerangan cahaya terang benderang atau mendapat cahaya putih, sebaliknya jika tidak mendapat cahaya yang memadai akan didapatkan warna semu. Adanya fenomena warna asli dan warna semu ini penting diketahui oleh para pemeriksa mutu (inspektor) agar dalam memeriksa

3) Macam-macam Cara Pengukuran Warna

Secara umum dikenal 5 golongan cara menilai atau mengukur warna yaitu (1) cara diskripsi, (2) cara gambar (chart methods) atau juga disebut cara padanan (matching methods), (3) cara notasi, (4) cara spektrofotometri dan (5) cara panelis ahli. Pada dua cara pertama penilaian warna dilakukan secara subjektif visual. Cara ketiga dilakukan secara subjektif dan objektif dengan alat pengukur warna khsus. Cara ini telah dibahas di bab Sistem Notasi Warna. Sedangkan cara ke empat selalu dilakukan secara objektif dengan alat spektrofotometer. Cara kelima penilaiannya selalu secara subjektif menggunakan panelis ahli, yang penilaiannya semata-mata atau sepenuhnya dipercayakan pada subjektifitas seorang fanelis itu. Cara terakhir ini banyak digunakan pada industri cat dan textil dan jarang digunakan di industri pangan, karenanya tidak akan dibahas lebih lanjut.

4) Penilaian Warna Secara Diskripsi

Mendiskripsi suatu warna tidaklah mudah. Warna merahnya lombok berbeda dengan merahnya apel, merahnya tomat, merahnya udang

rebus merahnya daging ikan dan merahnya daging ayam. Bermacam-macam warna merah itu semua disebut merah namun jika mereka dijejerkan dan dibandingkan akan tampak semua warna merah itu tidak sama.

Cara paling sederhana untuk menyatakan suatu warna adalah dengan memperagakan (display) warna yang dimaksud. Dalam dunia usaha peragaan warna di lakukan dengan peragaan contoh produk yang disebut cuplikan peraga, oleh penjual dan pembeli. Cara ini tidak selalu praktis. Sementara itu cuplikan peraga (speciment) itu warnanya dapat mengalami perubahan, sehingga tidak sama lagi dengan warna populasi yang diwakilinya.

Diskripsi warna biasanya digunakan untuk menilai suatu warna pada suatu jenis komoditas tertentu atau untuk tujuan spesifik. Diskripsi berbagai warna merah untuk tomat tidak berlaku untuk daging. Cara diskripsi warna hanya cocok untuk menilai produk yang warnanya spesifik namun terjadi variasi atau penyimpangan warna yang menyebabkan mutu produk itu berubah. Variasi warna itu dinyatakan dengan berbagai diskripsi warna yang dilakukan dan diurut secara sistematik kemudian disusun dalam bentuk tabel.

Setiap kali menilai warna produk, dilakukan dengan cara mencocokan keadaan warna produk yang terlihat dengan diskripsi warna yang tertulis pada tebel. Contoh-contoh diskripsi warna untuk menilai mutu produk pangan di Amerika Serikat dapat di temui untuk komoditas daging sapi, lemak sapi, madu, mentega. Komoditas lain yang h=juga mempunyai diskripsi baku mutu wara ialah kapas, tepung terigu dan tembakau.

Tabel 3. Diskripsi Mutu Warna Baku untuk Daging Sapi

No. Urut/ Skor	Diskripsi baku	
1	Merah pink	Dark pink
2	Merah ceri	Light cerry red
3	Merah ceri agak gelap	Slight dark cherry red
4	Merah agak gelap	Moderately dark red
5	Merah gelap	Dark red
6	Merah sangat gelap	Very dark red

Tabel 4. Diskripsi Mutu Warna Baku untuk Madu

No. Urut/ Skor	Diskripsi warna baku	
1	Jernih air	Water white
2	Jernih extra	Extra water
3	Jernih	White
4	Amber sangat ringan	Extra light amber
5	Amber ringan	Light amber
6	Amber	Amber

Tabel 5. Diskripsi Mutu Warna Baku untuk Kapas

No. Urut/Skor	Diskripsi warna buku	
1	Sangat putih	Extra white
2	Putih	White
3	Abu-abu	Gray
4	Bintik-bintik	Spotter
5	Saput warna	Tinged

Tabel 6. Diskripsi Mutu Warna Baku untuk Tembakau

No. Urut/Skor	Simbol	Diskripsi warna buku	
1	L	Kuning lemon	Lemon
2	F	Jingga / Oranye	Orange
3	D	Merah mahoni	Red/ Mahagoni
4	G	Hijau	Green

b. Pengujian Nilai-nilai Ukuran Bahan Hasil Pertanian dan Perikanan

Melakukan pengujian terhadap sampel ialah melakukan identifikasi, pengujian dan pengukuran sampel sesuai dengan metode standar di laboratorium pengujian. Ruang lingkup pengujian meliputi teknik

pengujian, identifikasi pengujian dan pengukuran sampel (berat, panjang, lebar, ketebalan seta volume) sesuai metode serta mencatat hasil pengujian. Peralatan yang akan digunakan untuk identifikasi pengujian dan pengukuran sampel harus akurat atau ketepatan pengukuran sesuai dengan nilai yang sebenarnya, karena alat ukur yang tidak akurat akan menghasilkan prediksi yang bias pada hasil identifikasi. Untuk memastikan alat akurat atau tidak maka harus dilakukan kalibrasi. Kalibrasi adalah prosedur pengujian yang harus mengacu kepada peraturan yang ada misalnya prosedur operasional standar/Standar Operational Procedure (SOP) dan SNI.

Setiap pengujian yang diputuskan harus dilakukan terhadap suatu bahan atau barang hendaknya dianggap pengujian tersebut penting, utama dan juga kritis. Apapun sifat dan jenis pengujian pada akhirnya akan digunakan sebagai dasar untuk pengambil kesimpulan akhir suatu mutu. Sifat metode pengujian ditinjau pengaruhnya terhadap bahan/ sampel sesudah pengujian adalah sifat pengujian yang merusak (*destructive*) bahan sampel dan pengujian yang tidak merusak (*non-destructive*) bahan sampel. Pengujian yang tidak merusak bahan/sampel seperti uji visual tertentu, uji fisis tertentu memungkinkan dilakukan terhadap jumlah sampel yang ukurannya besar. Dengan demikian kemungkinan terjadinya bias akibat jumlah sampel yang tidak bersifat mewakili populasinya dengan mudah dapat diatasi.

Tujuan pengamatan / pengujian biasanya untuk mengetahui keseragaman atau nilai rata-rata mutu bahan, dan dapat juga bertujuan atau menerima atau menolak suatu bahan. Pengamatan atau pengujian yang bertujuan untuk menerima atau menolak suatu bahan menuntut sampel yang benar-benar akurat sebagai wakil populasi. Untuk pengambilan sampel yang demikian memerlukan tingkat ketelitian yang tinggi atau jumlah sampel yang ukurannya besar.

Identifikasi sampel adalah mengenali sampel-sampel yang akan diuji yang bertujuan untuk mendapatkan informasi yang berkaitan dengan :

1) Analisa sifat mutu laboratorium
2) Inspeksi mutu produk
3) Penerimaan/transaksi barang (AQL, OCC)

Sifat mutu daripada sampel yaitu diam/batch dan mengalir/ continous, homogen/seragam, heterogen/beragam (berkelas). Bentuk terdiri dari satuan kemasan (makanan kaleng), utuh (karkas, buah, telur), curah (butiran, tepung, cairan). Variasi sampel misalnya populasi tunggal (single pop) da populasi ganda (*stratifield pop*).

Jenis-jenis sampel yang terdiri dari :

1) Produk padat yaitu produk yang bersifat keras, bentuk geometri butir dan tepung, bentuk satuan curah. Satuan terbuka (buah), kemasan (mie instan), curah dalam tumpukan, silo, karung (gandum, tapioka, gula pasir).
2) Produk cair dan semi padat bersifat plastis (fluida), berubah bentuk, dapat mengalir, bentuk curah atau kemasan.
3) Produk cair, yaitu air, minuman, minyak goreng, sirup, bir, anggur. Produk semi padat (kental) misalnya madu, jam, sambal, bubur.
4) Produk dalam kemasan kecil dalam bentuk botol, tetrapak, tube, dan lain-lain diperlakukan seperti kemasan padat.

Dalam menyiapkan sampel petugas terlebih dahulu harus menyiapkan diri yaitu :

1) Mencuci tangan sebelum mengganti pakaian dengan pakaian kerja khusus. Gunakan sabun atau larutan yang mengandung desinfektan dan bilas dengan air bersih. Keringkan tangan sebelum melakukan kegiatan berikutnya.

2) Memakai pakaian kerja khusus, yaitu verpack atau jas laboratorium. Jika memakai wearpack, buka pakaian luar Anda dan kenakan wearpack. Jika menggunakan jas laboratorium, tidak perlu membuka pakaian luar Anda, dalam kondisi bersih.
3) Memakai sarung tangan dari kain, kulit atau glove, topi dan masker debu, jika perlu juga kaca mata untuk mereduksi pengaruh debu yang dihasilkan bahan di gudang.

c. Pengujian Sifat Khusus Bahan Hasil Pertanian dan Perikanan

1) Indeks Refraksi

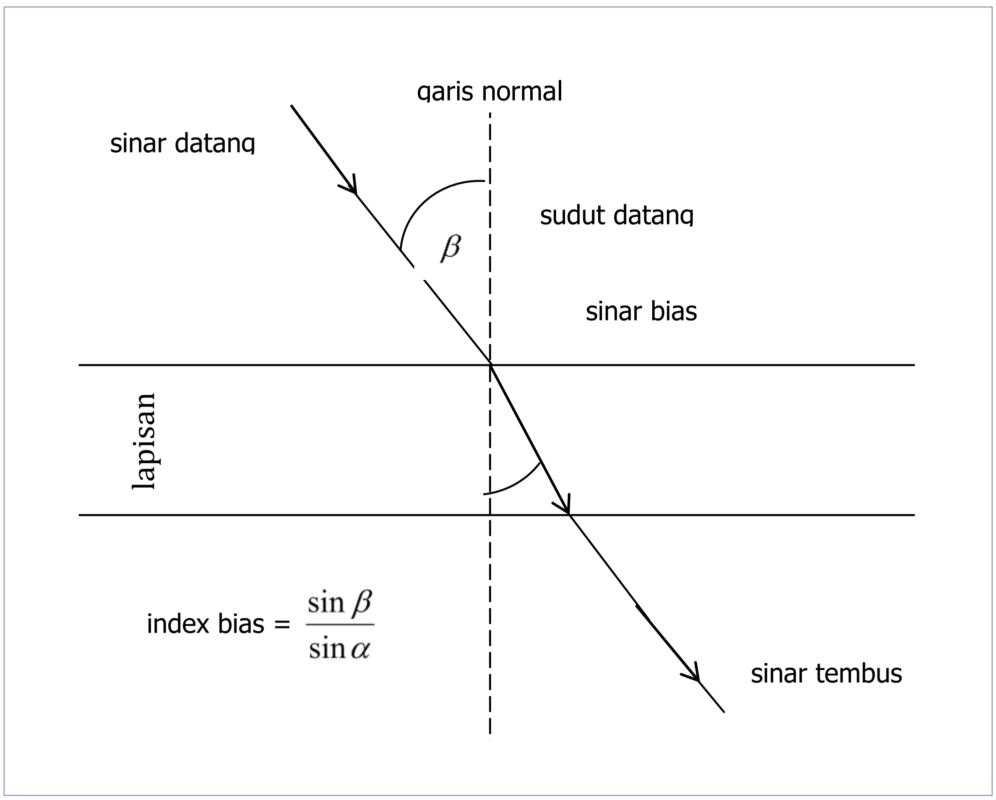
Refraksi atau bias ialah sinar yang dibelokkan arahnya karena melalui benda bening. Sinar yang mengenai benda disebut sinar masuk, yang melewati benda bening disebut sinar bias dan yang keluar dari benda disebut tembus atau sinar keluar. Sudut antara sinar masuk dan garis normal disebut sudut datang. Sudut antara sinar bias dan garis normal disebut sudut bias. Garis normal ialah garis tegak lurus pada permukaan benda. Indeks bias adalah perbandingan sinus sudut datang (B) dengan sinus sudut bias (α). Sinar datang dari media renggang ke media yang lebih rapat yang bening akan dibebaskan, demikian pula melalui alkohol, minyak, dan cairan bening lainnya. Karenanya sifat itu sebenarnya dapat digunakan untuk menguji kemurnian zat, misalnya untuk minyak goreng, alkohol dan lain-lain. Tetapi cara ini jarang digunakan.

2) Penggunaan Refraksi dalam Pengawasan Mutu

Benda-benda yang terlarut dalam pelarut juga memperbesar sinar bias makin besar zat terlarut makin besar pula kemampuan membelokkan

sinar. Prinsip ini digunakan untuk mengukur kadar zat terlarut atau kadar larutan. Yang diukur adalah index biasnya. Alat yang digunakan untuk mengukur index bias disebut refraksimeter.

Untuk larutan murni (monomolekuler) refraktometer dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi larutan misalnya larutan garam, larutan gula, campuran etanol-air. Pembacaan konsentrasi perlu dibantu dengan daftar rujukan (reference table). Contoh tabel larutan gula ialah (Tabel 7)



Gambar 4. Sinar Bias

Cara ini dapat digunakan untuk mengukur kadar gula. Pada nira, madu, nira aren, nira siwalan atau cairan sirup, atau untuk mengukur kadar garam pada air laut, larutan garam, larutan pikel (brine). Untuk larutan campuran maka yang diukur sebenarnya perkiraan jumlah semua zat

terlarut, karenanya biasanya dinyatakan dalam total padatan terlarut (TSS, total soluble solid). Cara ini digunakan untuk mengukur padatan terlarut pada buah-buahan, sari buah, dan saus tomat.

Tabel 7. Kesetaraan Index Bias dan Kadar Sukrosa pada suhu 20^{0}C.

Kadar Sukrosa	Index Bias
0.0	1,33299
1.0	1,33443
2.0	1,33588
3.0	1,33733
4.0	1,33880
5.0	1,34027
6.0	1,34176
8.0	1,34477
10.0	1,34783
20.0	1,36384
25.0	1,37230
30.0	1,38110
35.0	1,39020
40.0	1,39970
50.0	1,42008
60.0	1,44192
70.0	1,46541
80.0	1,49663

Zat kimia murni mempunyai refraksi spesifik. Dengan bantuan tabel rujukan (reference table) pengukuran refraksi spesifik dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif bandingan zat-zat tertentu dalam suatu larutan.

3) Refraksi untuk Analisa Komponen

Tiap-tiap atom atau gugusan atom akan memberi kontribusi pada besarnya refraksi sinar secara keseluruhan. Refraksi untuk atom, ikatan atom atau gugusan atom disebut refraksi atomer. Refraksi keseluruhan

merupakan jumlah keseluruhan refraksi atomer, dan disebut refraksi spesifik.

Index bias suatu bahan adalah perbandingan ialah perbandingan antara sinus sudut jatuh dan sinus sudut bias, apabila seberkas cahaya dengan panjang gelombang tertentu jatuh dari udara ke dalam suatu bahan yang dipertahankan pada suhu tetap.

Jadi dasar dari pembiasan adalah penyinaran yang menembus dua macam media dengan kerapatan yang berbeda. Karena perbedaan kerapatan tersebut, akan terjadi perubahan arah sinar. Panjang gelombang dari sinar tersebut adalah 589,3 + 0,3 nm (nano meter), yang selaras dengan garis-garis spektrum sinar natrium. Suhu referensi ialah 20^0 C, kecuali untuk bahan yang tidak berupa cairan pada suhu ini, maka dapat digunakan pengukuran pada suhu 25^0 C atau 30^0 C, tergantung pada titik cair dari bahan.

Pengukuran indeks bias dapat digunakan untuk menentukan kemurnian minyak. Penentuan indeks bias ini dapat menentukan dengan cepat terjadinya proses hidrogenasi katalitis, yaitu semakin panjang rantai atom karbon dan semakin banyak ikatan rangkap, maka indeks bias minyak semakin besar.

Alat yang digunakan untuk penetapan indeks bias adalah"ABBE refractomater" yang dilengkapi dengan alat pengukur suhu. Pada suhu 25^0 C indeks bias air suling = 1,3325 dan indeks bias etanol 85 persen boot = 1,3630. Apabila seberkas sinar lewat dari suatu medium ke medium lain yang berbeda spesifik gravitasinya, maka arah sinar akan berubah pada saat melalui permukaan. Sinar demikian disebut pembiasan.

Indeks bias suatu bahan adalah perbandingan antara sinus sudut jatuh (i) dan sinus sudut bias (r). Apabila seberkas cahaya dengan panjang gelombang tertentu jatuh dari udara ke suatu bahan yang dipertahankan pada suhu tetap, rumus sebagai berikut:

$$n = \frac{Sin \quad i}{Sin \quad r}$$



Gambar 5. Alat Penetapan Index Bias (Refraktometer)

Apabila medium kedua lebih besar gravitasinya dari medium yang pertama, maka sinar akan membias mendekati normal. Indeks bias yang diberikan oleh 2 medium, dipengaruhi oleh suhu, panjang gelombang sinar dan tekanan. Apabila faktor-faktor tersebut dipertahankan konstan, maka indeks bias suatu medium adalah konstan. Jadi dasar dari pembiasan adalah penyinaran yang menembus dua macam medium dengan kerapatan yang berbeda. Perbedaan kerapatan membebaskan perubahan arah sinar. panjang gelombang dari sinar adalah 589,3 + 0,3 nm (nano meter), yang dengan garis-garis spektrum sinar natrium.

Pengukuran indeks bias dapat digunakan untuk identifikasi dan determinasi kemurnian suatu bahan (menentukan kemurnian minyak) serta determinasi komposisi suatu campuran homogen. Penentuan indeks bias ini dapat menentukan dengan cepat terjadinya proses hidrogenisasi katalisis, yaitu semakin panjang rantai atom karbon semakin banyak ikatan rangkap, maka indeks bias minyak semakin besar. Indeks bias dinyatakan dengan simbol n_D^{20}. Artinya indeks bias diukur pada suhu 20^0 C dengan menggunakan sinar natrium.

Pengukuran refraksi indeks bias telah lama digunakan untuk mengidentifikasi campuran yang tidak diketahui, dengan membandingkan indeks bias dari campuran harga yang ada pada literatur. Indeks bias dari suatu komponen dapat dihitung dengan mengalikan berat molekul campuran dengan spesifik refraksinya, menggunakan persamaan Lorentz-Lorentz :

$$R = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} x \frac{M}{d}$$

R = jumlah refraksi atom tiap-tiap molekul

M = berat molekul

d = density

n = indeks bias

Persamaan tersebut terutama digunakan untuk mengidentifikasi zat yang tidak diketahui.

4) Densitas (Kerapatan)

Densitas atau kerapatan ialah merupakan parameter dan faktor mutu bahan hasil pertanian yang sangat penting dan bisa dijadikan standar untuk dinilai baik/buruknya suatu bahan tersebut. Suatu contoh densitas nyata/bobot jenis susu murni antara 1,020 -1,035 ini

menyatakan bahan susu apabila bobot jenis berada pada kisaran angka tersebut berarti termasuk mutu baik atau layak dikonsumsi, tetapi sebaliknya apabila kisaran angka bobot jenisnya diluar angka tersebut maka dapat dinyatakan bahwa kualitas/mutu susu tersebut kurang baik. Begitu pula untuk bahan-bahan yang lain seperti bernbagai minyak atsiri, bahan cair lainnya bahkan alkohol biasanya berat jenis merupakan syarat mutu.

Densitas atau kerapatan bahan dihitung berdasarkan perbandingan antara bobot dan volume bahan. Ada tiga macam densitas yang dikenal untuk menentukan sifat bahan:

Absolute density (Densitas mutlak)
Relative density (Densitas relative/kerapatan nisbi)
Apparent density (Densitas nyata/bobot jenis)

Densitas mutlak adalah perbandingan antara bobot dengan volume bahan. Bobot merupakan ukuran sesuatu bahan yang dipengaruhi oleh gaya tarik bumi (gravitasi).

Bobot = massa x gravitasi

Densitas relative (nisbi) adalah perbandingan densitas/ kerapatan suatu bahan pada suatu suhu tertentu dengan densitas/ kerapatan standar, yang biasanya menggunakan air pada suhu yang sama. Karena air mempunyai bobot jenis = 1 maka untuk menentukan kerapatan nisbi adalah dengan membagi volume bahan (“absolute displacement”)dengan bobot bahan sebelum pemasukan bahan ke dalam zat cair.

Densitas nyata (kerapatan nyata) atau sering disebut bobot jenis (“specific gravity”) adalah perbandingan antara massa suatu bahan

pada suhu tertentu dengan massa air pada suhu yang sama. Bobot jenis dapat diubah langsung menjadi kerapatan nisbi, hal ini berdasarkan kenyataan bahwa kerapatan bahan pada suhu yang sama, sama dengan bobot jenis dikalikan kerapatan nisbi air.

Densitas (kerapatan bahan) = bobot jenis x kerapatan air

Bobot jenis pada suatu suhu (20^0 C) dari suatu bahan adalah perbandingan antara kerapatan bahan tersebut pada suhu itu dengan kerapatan air suling pada suhu yang sama. Besaran ini tidak mempunyai dimensi, dan simbolnya adalah :

d_t^t atau d_{20}^{20} (semua perbandingan dilakukan di udara)

Kerapatan massa pada suatu suhu tertentu dari bahan adalah perbandingan antara massa suatu volume bahan tertentu dengan velume pada suhu tersebut. Kwantitas ini dinyatakan dalam gram per milimeter dengan simbol:

$\eta^{20} = (rho"20)$ gram/ml.

Densitas/kerapatan mutlak atau absolute density yang diuraikan di atas yaitu perbandingan antara bobot/bobot bahan dengan volume bahan (dinyatakan dalam ml atau liter). Untuk densitas mutlak ini bahan yang diukur atau ditentukan densitasnya umumnya bahan padatan, tepung, biji-bijian, beras dan sejenisnya. Penentuan dengan cara menimbang bahan-bahan tersebut, misalnya dalam jumlah kecil, ditimbang tepung terigu sebanyak 100 gram kemudian dengan teliti tepung yang telah ditimbang tadi dimasukkan dalam gela ukur/beaker glass 500 ml, kemudian dilihat pada gelas ukur tersebut menunjukkan berapa ml

tepung tersebut, selanjutnya dibuat perbandingan antara bobot/berat dengan volume bahan tadi, misal bobot = 100 gram, volume 110 ml, maka bobot berbanding volume b/v berarti 100/110 = 0, 91.

Densitas relative (kerapatan nisbi) seperti yang diuraikan di atas dimana perbandingan antara densitas/kerapatan bahan pada suatu suhu tertentu dengan kerapatan standar (kerepatan standar yang digunakan air bersih). Untuk densitas relative ini bahan yang diukur atau ditentukan densitasnya umumnya bahan padatan, biji-bijian dan sejenisnya.

Penentuannya dengan cara bahan ditimbang, misal dalam partai kecil, timbang kedelai sebanyak 200 gram, kemudian mengukur air dalam gelas ukur/beaker glass sebanyak 200 ml, lalu masukkan kedelai yang telah ditimbang tadi dalam gelas ukur yang berisi air tadi, setelah beberapa saat hitung kenaikan air dari semula 200 ml, misalnya menjadi 250 ml, selanjutnya densitas relative dapat dihitung, dimana apabila berat kedelai 200 gram (b), volume air mula-mula sebelum dimasukkan bahan 200 ml (V besar), maka untuk mengetahui berapa densitas relativenya yaitu dihitung dengan rumus :

$$\frac{(Vbesar - Vkecil)}{bobot \quad bahan \ (b)} = \frac{(250 - 200)}{200} = \frac{50}{200} = 0{,}25$$

Densitas nyata ataui bobot jensi/apparent density dimana uraiannya telah dijelaskan di atas, sedangkan untuk densitas nyata atau bobot jenis ini umumnya bahan yang diukur densitasnya atau bobot jenisnya bahan berbentuk cair misalnya minyak kelapa, minyak atsiri, sari buah, sirup, kecap, susu dan sejenisnya. Penentuannya dengan menggunakan alat ukur khusus, misalnya untuk berat jenis susu menggunakan alat

yang disebut Lactodensi meter, untuk jenis minyak dan atsiri digunakan Piknometer.

5) Viskositas (Kekentalan)

Kekentalan merupakan salah satu sifat reologi yang amat penting pada banyak produk pangan. Sifat kental penting peranannya baik dalam uji mutu dan standarisasi mutu maupun juga dalam pengendalian proses selama pengolahan. Untuk produk-produk pangan tertentu kekentalan juga penting sebagai petunjuk kandungan zat-zat tertentu. Misalnya kekentalan dapat digunakan untuk menyatakan kandungan gula pada nira, atau untuk menyatakan kemurnian cairan minyak.

Kekentalan juga dapat digunakan sebagai petunjuk adanya kerusakan penyimpangan atau penurunan mutu pada beberapa produk pangan seperti pektin, jelatin, bubur, agar. Produk-produk ini jika kekentalannya menurun atau disebut menjadi encer maka memberikan petunjuk adanya kerusakan atau penyimpangan mutu. Demikian pula susu segar yang berubah menjadi sangat kental juga merupakan petunjuk bahwa susu sudah mengalami kerusakan.

Kental biasanya digunakan untuk menyatakan hambatan (Resistensi) terhadap pengaliran produk. Dalam hal ini istilah kental lebih diutamakan untuk produk pangan cair atau yang encer, seperti air, minuman sirup, minyak goreng. Sejalan dengan itu dikenal juga istilah konsistensi yang artinya hambatan (resistensi) terhadap deformasi produk plastis seperti dodol, gula kental, adonan roti, jem, agar, jelatin. Dalam hal ini istilah konsistensi lebih diutamakan untuk produk sangat kental atau bentuk adonan.

Kedua bentuk resistensi itu pada dasarnya sama, karena deformasi bentuk sebetulnya juga merupakan bentuk aliran namun aliran yang sangat lambat dengan arah aliran yang tidak menentu. Kekentalan atau konsistensi disebabkan oleh gaya kohesi antar pertikel atau antar molekul yang mengikat mereka bersatu.

Plastis pada fisika ialah sifat benda yang mudah mengalami perubahan bentuk akibat gaya mekanis (shear force). Dalam pengertian ini plastis digunakan baik untuk produk bentuk cair maupun untuk produk bentuk cair maupun untuk produk kental. Pada produk pangan pengertian Plastislebih diutamakan untuk produk bentuk padat yaitu untuk menyatakan sifat yang mudah mengalami perubahan bentuk namun tanpa menjadi rusak, misalnya untuk produks seperti dodol, agar, jam dan mentega.

Lawan dari kental adalah encer yaitu sifat mudah mengalir. Mengalir adalah suatu proses dimana tiap-tiap partikel atau molekul dalam benda itu bergerak pada arah yang sama. Produk pangan dikatakan kental jika tingkat atau nilai kekentalannyatinggi, sebaliknya jika nilai kekentalannya rendah disebut encer. Jadi pengertian kental dan encer ditentukan oleh tingkat atau nilai kekentalannya. Dalam pengujian mutu atau standarisasi mutu nilai batas itu ditetapkan.

6) Macam-macam Produk Kental

Mengenal macam-macam produk kental penting dalam hubungannya dalam pengolahan dan penanganan produk yang selanjutnya berkaitan dengan mutu. Berdasarkan sifat aliran bentuk kental digolongkan pada cairan Newton non Newton.

Produk Newton yaitu produk kental atau cair yang kekentalannya tidak dipengaruhi oleh besarnya atau meningkatnya gaya untuk mengalirkannya atau menggerakannya. Larutan murni yang encer; seperti larutan gula encer, larutan asam, larutan garam termasuk dalam produk kental Newton.

Produk pangan non Newton yaitu produk pangan yang nilai kekentalannya berubah akibat meningkatnya gaya pengalirannya. Berdasarkan pola pengolahan kekentalannya itu dikenal (1) produk pangan plastis, (2) produk pangan pseudoplastis,dan (3) produk dilatan.

Produk pangan plastis adalah produk kental yang nilai kekentalannyadlm keadaan biasa memang sudah tinggi dan jika dikenai gaya pengalihan hear force yang besar kekentalannya tiba-tiba menurun tajam, sehingga produk yang tadinya susah digerakkan atau dialirkan setelah kena gaya tiba-tiba menjadi gampang mengalir. Contoh produk pangan plastis ialah saus tomat, pudding, krim, sambal cabe dalam botol. Pada produk plastis diperlukan gaya awal yang tinggi untuk mengalirkannya.

Produk pangan pseudoplatis juga bersifat makin menurun kekentalannya jika gaya pengalirannya dinaikkan, namun penurunan kekentalannya tidak tajam. Makin besar gaya yang dikenakkan aliran makin lancar. Contoh produk pangan pseudoplatis ialah susu segar, santan, krim cair.

Produk pangan dilatan mempunyai sifat aliran kebalikan dari produk plastis. Produk ini makin kental jika dikenai gaya pengaliran yang makin tinggi. Contohnya ialah mentega kacang (peanut butter), dispersi tepung pati gula kental (gulali). Produk semacam ini jika tiba-tiba dikenai gaya mekanis yang tinggi menjadi sangat keras dan mudah rapuh (pecah-pecah). Di luar ketiga macam produk non Newton terdapat pula produk

kental yang sifat alirannya berbeda atau menyimpang dari produk tersebut di atas.

7) Pengukuran Kekentalan Produk Pangan

Dalam pengujian mutu kekentalan produk pangan dapat diukur secara fisik dengan instrumen atau secara organoleptik oleh penguji mutu atau panelis. Instrumen fisik yang digunakan untuk mengukur kekentalan secara umum disebut viskosimeter. Dikenal banyak jenis viskosimeter, beberapa viskosimeter sangat spesifik untuk jenis produk pangan tertentu. Penetapan kekentalan larutan/cairan digunakan viskosimeter, dan ada bermacam-macam viskosimeter, antara lain: Viskosimeter Oswald, Viskosimeter Strometer, Viskosimeter PVF Brookfield dan Viskosimeter "Ubbelohde"

Viskosimeter Oswald menggunakan prinsip kecepatan aliran bahan pada suatu pipa kapiler. Viskosimeter Stromer menggunakan prinsip gaya tahan cairan terhadap gerakan silinder logam yang berputar, dan Viskosimeter LVF Brookfield menggunakan prinsip seperti Viskosimeter Stromer. Satuan dari Viskosimeter adalah sentipoise. Pada modul ini disajikan Viskosimeter LVF Brookfield.



Gambar 6. Alat Pengukur Kekentalan (Viscosimeter Brookfield)

d. Pengujian Bahan Hasil Pertanian dan Perikanan Secara Thermometri /Gravimetri

Ruang lingkup materi pembelajaran ini meliputi Penentuan tiik leleh dan titik didih sert berat jenis dari suatu bahan hasil pertanian, penentuan titik leleh dan titik didih dari suatu bahan hasil pertanian pada umumnya dilakukan pada banyak bahan yang mengandung lemak dan minyak. Lemak (minyak) hewani dan nabati merupakan campuran dari gliserida dan komponen-komponen yang lain, sehingga tidak mempunyai titik cair yang tepat, tetapi mencair diantara batas suhu tertentu. Jika lemak/ minyak mengandung asam lemak yang derajat ketidak jenuhannya makin tinggi, maka titik cairnya akan makin rendah.

Tujuan penentuan ini adalah untuk mengetahu titik leleh dari hasil pertanian yang mengandung lemak atau minyak, sehingga faktor mutu, sifat mutu dan parameter mutu dari suatu bahan bisa diketahui dan pada akhirnya bisa menangani bahan baik untuk diolah maupun untuk diawetkan.

Titik leleh adalah suhu pada saat lemak mulai meleleh atau cukup air, sehingga dapat bergerak atau meluncur di dalam tabung kapiler. Jadi titik leleh adalah suhu pada saat lemak mulai berubah keadaan dari keras menjadi lunak/meleleh. Penentuan titik leleh ini dapat dilakukan pada beberapa jenis lemak, seperti lemak hasil hidrogenasi, minyak kelapa dan margarin.

Penentuan titik leleh bahan yang biasanya diukur misalnya margarin, mentega dan gondorukem, pada prinsipnya bahan misalnya margarin dipanaskan oleh alat pemanas yang dinamakan “Melting Point Apparatus”, sedangkan cara kerjanya sebagai berikut:

1) Pipa kapiler yang terbuat dari gelas/kaca berbentuk bulat panjang, diameter + 1,5 mm, panjang 5 cm ditusuk-tusukan pada margarin sehingga margarin masuk kedalam pipa sampai kira-kira 10 mm.
2) Operasionalkan/hidupkan "Melting Point Apparatus" sesuai prosedur kerja alat.
3) Masukkan pipa kapiler yang berisi margarin tersebut pada Melting Point Apparatus untuk dipanaskan.
4) Pada suhu tertentu maka margarin akan meleleh dan pada saat meleleh tersebut suhu dicatat berapa ^{0}C yang ditunjukkan pada termostat yang berada dalam alat tersebut.

Titik leleh atau titik didih suatu bahan pada dasarnya hanya bisa diukur oleh alat pengukur suhu, sedangkan jenis alat ukur suhu :

1) Termometer
2) Melting Point Aparatus

1) Termometer

Termometer adalah alat pengukur suhu, baik suhu dibawah nol (suhu beku), suhu rendah sampai suhu tinggi. Hubungannya dengan analisis fisis tentunya digunakan untuk mengukur suhu bahan hasil pertanian tau produk hasil pertanian yang umum diukur suhunya kebanyakan bahan berbentuk cair dan pasta.

Termometer yang umum digunakan ada 2 macam, *termometer alkohol* dan *termometer air raksa*. Termometer alkohol penunjuk skalanya biasanya digunakan warna merah, sedangkan termometer air raksa penunjuk skalanya menggunakan warna putih/jernih.

Pengukuran suhu dibawah 0 ^{0}C (titik beku) sampai suhu 100^{0}C, maka termometer yang digunakan umumnya termometer alkohol karena skala suhunya maksimum 110 ^{0}C, sedangkan pengukuran di atas suhu tersebut menggunakan termometer air raksa karena jenis termometer ini tahan panas.

2) Melting Point Aparatus

Pada dasarnya Melting point aparatus sama seperti termometer yang berfungsi untuk mengukur suhu, tapi penggunaannya khusus untuk mengukur titik lunak atau leleh. Alat ini dinamakan aparatus karena terdiri dari beberapa rangkaian alat, seperti alat pemanas, termostat dan tempat untuk menyimpan bahan.

Alat pemanas yang terbuat dari plate baja/kawat yang terletak di dalam alat, panas dihasilkan karena adanya aliran listrik yang bisa dirubah menjadi panas sehingga panas tersebut bisa melelehkan bahan yang akan diukur titik lelehnya. Bahan yang diukur titik lelehnya misalnya margarin, mentega dan sejenisnya.

Termostat, berfungsi untuk mencatat suhu titik lunak/titik leleh bahan tersebut, skala ukur yang ditunjukkan berupa angka suhu dalam ^{0}C, sedangkan alat untuk emnyimpan sampel berupa 2 (dua) buah lubang untuk menyimpan pipa kapiler yang berisi sampel uji.



Gambar 7. Alat "Melting Point Aparatus"

3. Tugas

Lakukan kegiatan praktikum analisis bahan hasil pertanian secara fisis/mekanis di laboratorium dibawah pengawasan guru pembimbing/pengampu.

Hal-hal penting yang harus anda perhatikan selama melakukan praktikum adalah sebagai berikut:

1. Gunakan lembar kerja yang telah ditetapkan oleh guru pembimbing/pengampu, diantara lembar kerja yang terdapat pada pembelajaran ini
2. Mematuhi semua instuksi untuk keselamatan kerja
3. Menyiapkan alat untuk praktikum
4. Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum
5. Melaksanakan praktikum sesuai dengan langkah kerja/ prosedur pada lembar kerja
6. Menanyakan hal-hal yang belum dipahami kepada guru pembimbing/pengampu
7. Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung
8. Melakukan diskusi dengan anggota klompok kerja dan pencatatan data hasil pengamatan/diskusi
9. Menghitung/mengolah data hasil pengamatan
10. Membuat laporan hasil praktikum
11. Membersihkan lingkungan laboratorium setelah melakukan praktikum
12. Mengumpulkan laporan kelompok hasil praktikum

Lembar kerja 1.

Acara : Menganalisis bahan hasil pertanian menggunakan alat fisik

Tujuan : Siswa mampu menguji / menganalisis bahan hasil pertanian menggunakan alat fisik

Alat dan Bahan

1. Alat Anlisis bahan hasil pertanian secara fisik (Organoleptik)
2. Bahan hasil pertanian berupa padatan (biji- bijian, buh- buahan, sayur-sayuran dll)

Kesehatan dan Keselamatan Kerja

1. Gunakan pakaian praktik !
2. Ikuti prosedur percobaan dengan benar, konsultasikan rencana kerja anda pada guru pembimbing !
3. Hindarkan penggunaan alat diluar fungsinya !
4. Tempatkan semua peralatan dalam kondisi yang aman !

Langkah Kerja

1. Lakukan analisis/pengujian bahan pertanian dengan peralatan yang ada
2. Lakukan Analisis/pengujian fisik/ Organoleptik (penampakan, teksur dsb.)
3. Masukkanlah semua hasil pengamatan dalam tabel pengamatan !

Tabel Pengamatan Analisis/pengujian dengan alat fisik

No	Nama Bahan	Jenis	Hasil Analisis/ pengujian	Cara Analisis
1				
2				
3				
dst				

Lembar kerja 2.

Acara **:** Menganalisis nilai-nilai ukuran bahan hasil pertanian

Tujuan **:** Siswa mampu menganalisis/menguji nilai-nilai ukuran bahan hasil pertanian dan perikanan

Alat dan Bahan

1. Alat Ukur (Timbangaan, penggaris, mikrometer dll)
2. Bahan hasil pertanian berupa padatan (biji- bijian, buh- buahan, sayur-sayuran, dll)

Kesehatan dan Keselamatan Kerja

1. Gunakan pakaian praktik !
2. Ikuti prosedur percobaan dengan benar, konsultasikan rencana kerja anda pada instruktur !
3. Hindarkan penggunaan alat diluar fungsinya !
4. Tempatkan semua peralatan dalam kondisi yang aman !

Langkah Kerja

1. Lakukan analisis bahan pertanian dan perikanan dengan peralatan yang ada
2. Lakukan Analisis pengukuran (luas, volume, berat dsb.)
3. Masukkanlah semua hasil pengamatan dalam tabel pengamatan !

Tabel Pengamatan Analisis/pengujian nilai-nilai ukuran dengan alat fisik

No	Nama Bahan	Jenis	Hasil Analisis	Cara Analisis
1				
2				
3				
Dst.				

Lembar kerja 3.

Acara **:** Menganalisis sifat khusus komoditas hasil pertanian

Tujuan umum **:** Siswa mampu Menganalisis nilai-nilai ukuran bahan hasil pertanian

Metode : Viscosimeter LVF Brodefield

Tujuan khusus:

1. Siswa atau mampu melakukan pengujian kekentalan bahan/cairan hasil pertanian dengan benar.
2. Siswa mampu menggunakan peralatan dengan benar dan mampu melakukan perawatan alat.

Alat dan Bahan :

Alat-alat :

- Viscometer
- Tabung silinder
- Bandul yang berputar (spindel) dari berbagai ukuran
- Pengaduk
- Penangas air

Bahan-bahan :

- Minyak
- Susu
- Susu kental manis
- Lateks
- Kecap
- Lain-lain

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Langkah Kerja:

1 Persiapan sampel uji :
   a. Untuk sampel yang kekentalannya normal, sampel diwadahi dengan beaker glas 500 ml sebanyak 300-400 ml.
   b. Untuk sampel yang kekentalannya sangat pekat, sebelum diwadahi dengan beaker glas perlu diencerkan terlebih dahulu dengan memperhitungkan faktor pengencerannya.

2. Melakukan pengukuran kekentalan sampel:
   a. Pijit tombol “ON” untuk memulai operasional alat, maka pada layar akan muncul “Replace Spindel Press Eny Key” (artinya pasang spindel) dan letakkan sampel sehingga spindel terendam.
   b. Pasang spindel, untuk sampel yang kental gunakan spindel ukuran kecil dulu (No. 4) selanjutnya sesuaikan dengan spindel yang cocok.
   c. Mencari kode spindel pada tabel untuk mempermudah operasional alat.
   d. Apabila belum tepat pijit tombol ↑ atau ↓, tetapi apabila sudah tepat pijit tombol “Select Spindel”
   e. Atur kecepatan (RPM) dengan cara pijit tombol “Set Speed” dicoba dari paling kecil misal 30, 60, dan seterusnya.
   f. Apabila kecepatan telah sesuai, pijit tombol “Motor”.
   g. Perhatikan angka pada layar akan muncul Cp…., tunggu sampai angka stabil.
   h. Apabila belum stabil, maka Rpm dinaikkan atau diturunkan dan motor pada posisi “OF”.
   i. Nilai Viscositas atau kekentalan sampel secara kasar sudah diketahui, untuk lebih tepatnya gunakan rumus perhitungan.

Lembar kerja 4

Menentukan Indeks Bias Dengan Menggunakan ABBE Refraktometer

Alat dan Bahan

Alat-alat :

- Refraktometer
- Gelas piala
- Pipet tetes
- Termometer

Bahan-bahan :

- Minyak sereh
- Larutan gula
- Minyak kayu putih
- Alkohol 96%
- Kertas tisue
- kapas

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran dan percikan reagen.
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.
4. Pahami cara-cara khusus dari penggunaan masing-masing reagen.

Cara Perawatan Abbe Refraktometer

Agar ketelitian alat lebih teliti dalam pengukuran dan memperpanjang keutuhan alat, maka pemeliharaan yang tepat sangat penting. Hal-hal yang harus dilakukan untuk perawatan ABBE Refraktometer sebagai berikut :

1. Alat harus dijaga dalam keadaan kering dan suhu ruangan harus dalam keadaan baik, untuk menjaga bagian-bagaian optik dari tumbuhnya jamur.

2. Jika pengukuran indeks bias telah selesai, alat harus bersih kembali dan disimpan dalam kotak kayu.
3. Jangan sekali-kali menyentuh lensa (bagian optik) dengan tangan, apabila lensa kotor segera bersihkan dengan kertas lensa.
4. Jangan meninggalkan prisma masih dalam keadaan basah oleh sampel, bila Refraktometer tidak digunakan lagi.
5. Apabila alat tidak digunakan harus ditutup, hal ini untuk menghindari vibrasi (getaran) benturan mencegah kerusakan pada optik dan menjaga tngkat ketelitian dalam menentukan indeks bias

Langkah Kerja :

1. Keluarkan ABBE Refraktometer dari kotak kayu dengan cara memutar sekrup ke kiri pada bagian bawah kotak.
2. Bukalah prisma yang terkunci. Bersihkan prisma dan lempeng pengkajinya. Prisma jangan sampai tergores.
3. Teteskan 1 tetes bromonaphtalene pada prisma.
4. Letakkan lempeng pengkaji pada cairan dengan bagian yang licin menghadap sumber cahaya. Gerakkan lempeng pengkaji sehingga daerah kotak seluruhnya terisi. Usahakan tidak ada cairan pada sisi-sisinya.
5. Putar sekerup yang besar untuk mengatur sekala indeks yang sesuai dengan nilai yang ada pada lempeng pengkaji. Jangan lupa buka celah pada bagian samping kiri.
6. Atur lensa penerima sinar pada bagaian bawah alat, sehingga sinar dapat ditangkap lensa sebelah kanan dengan jelas.
7. Aturlah dengan menggunakan sekerup besar, sehingga diperoleh gambar terang pada lensa.
8. Gunakan sekerup yang kecil untuk mengatur pantulan batas gelap dan terang tepat pada persilangan rambut.
9. Gunakan sekerup yang besar untuk dicatat nilai indeks biasnya. Nilai ini harus sesuai (berimpit) dengan nilai yang terdapat pada lempeng pengkaji. Ulangi

pengukuran ini beberapa kali dengan mengatur pemantulan garis pisah dari atas dan dari bawah titik silang rambut.

10. Kalau indeks bias tidak sama dengan yang terdapat pada lempeng pengkaji, masukkanlah kunci penara pada mur. Kemudian sesuaikan skala dengan nilai yang terdapat pada lempeng pengkaji.

Peneraan Indeks Bias Zat Cair (Sampel) :

1. Bersihkan prisma sebersih mungkin dengan menggunakan alkohol dan catat temperatur sampel yang ditunjukkan thermometer.
2. Alirkan air melalui refraktometer agar alat berada pada suhu pembacaan (suhu ini tidak boleh berada lebih kecil atau lebih besar dari 2^0 C dari suhu pembanding.
3. Teteskan sampel pada prisma dengan menggunakan alat pipet tetes. Gunakan sampel secukupnya sampai seluruh permukaan prisma rata.
4. Tutuplah prisma dengan cara menguncikan, jaga jangan sampai ada gelembung udara pada sampel yang diperiksa.
5. Putar tombol (sekerup kecil) pengatur prisma, sehingga terlihat jelas perbedaan terang dan gelap. Atur batas terang gelap tepat melalui titik diagonal (persilangan) rambut. Atur sekerup besar untuk mengatur warna agar batas terang gelap tidak berwarna.
6. Bacalah besarnya indeks bias pada angka yang ditunjukkan oleh skala. Terutama setelah terlihat adanya perbedaan terang dan gelap.

Catatan : pembacaan dilakukan beberapa kali dan setiap pembacaan hanya boleh dilakukan apabila suhu dalam keadaan stabil.

7. Hasil pembacaan indeks bias belum menunjukkan skala yang sebenarnya, maka harus dikonversikan dengan rumus :

$$N_d^t = N_d^{t1} + 0{,}004(t1 - t)$$

Keterangan :

N_d^t = indeks bias

N_d^{t1} = pembacaan yang dilakukan pada suhu pengerjaan (t1)

0,004 = faktor koreksi setiap derajat (^{0}C)

Faktor koreksi untuk indeks bias masing-masing bahan adalah :

- Minyak sereh = 0,0005
- Minyak kayu putih = 0,0004
- Minyak pala = 0,0005
- Minyak cendana = 0,0003
- Minyak akar wangi = 0,0003
- Minyak kenanga = 0,0004

Lembar Kerja 5.

Mengukur Bobot Jenis/Densitas Nyata

Metode : Pengukuran Piknometer

Alat dan Bahan :

Alat-alat :

- Neraca analitik, kepekaan sampai 0,5 mg
- Piknometer
- Penangas air yang dipertahankan pada suhu 20 + 0,2^0 C
- Kulkas
- Termometer yang telah di standarisasi, terbagi dalam seperlima atau sepersepuluh derajat celsius.
- Oven

Bahan-bahan :

- Minyak kelapa/minyak atsiri
- Sari buah
- Sirop
- Kecap

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran dan percikan reagen.
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Langkah Kerja

1. Cuci dan bersihkan piknometer, kemudian dikeringkan dengan oven. Untuk pengukuran bobot jenis yang lebih teliti, setelah dicuci bersih, cucilah piknometer tersebut berturut-turut dengan etanol dan dietil eter kemudian dikeringkan.
2. Timbang bobot piknometer (bobot piknometer = m).
3. Isilah piknometer dengan air suling yang telah didihkan dan bersuhu tepat 20^0 C. hindari adanya gelembung-gelembung udara dan aturlah permukaan air sampai penuh atau sampai tanda tera.
4. Masukkan piknometer ke dalam penangas air pada suhu 20^0 C selama 30 menit. Periksa suhu penangas air dengan termometer. Apabila terdapat air dibagian luar, keringkan dengan kertas saring, sampai betul-betul kering.
5. Timbang piknometer yang berisi air (bobot piknometer berisi air = m_1).
6. Kosongkan piknometer dan isi dengan bahan yang akan diukur bobot jenisnya dan hindarilah terjadinya gelembung-gelembung udara. Aturlah permukaan bahan sampai tanda tera. (bobot zat yang akan diukur = m_2).

Perhitungan :

a) Bila :

   m = bobot piknometer kosong

   m_1 = bobot piknometer berisi air suling

   m_2 = bobot piknometer berisi zat

b) Bila pengukuran tidak pada suhu 20^0 C, perlu diadakan koreksi sebagai berikut :

   Kerapatan dinyatakan dalam gram per liter,dihitung dengan rumus :

$$Fx\frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Bobot jenis d_{20}^{20}, dihitung dengan rumus :

$$\frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Bobot jenis d_4^{20}, dihitung dengan rumus :

$$Fxd_{20}^{20}$$

Untuk harga F, lihat daftar bobot jenis dengan menggunakan Tabel 8.

Catatan :

Untuk zat yang dapat larut, atau cairan kental harus dilakukan pelarutan/pengenceran terlebih dahulu yaitu dengan menimbang zat/cairan kental sebanyak 50 gram, kemudian ditambahkan air suling di dalam labu ukur sampai menjadi 100 ml, baru kemudian larutam ditetapkan bobot jenisnya.

Tabel 8. Bobot jenis air dalam hampa udara (vacuum) Menurut Theisen, Scheel & Diesselhorst.

^{0} C			Per sepuluh derajat								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0,999	368	874	881	887	893	899	905	911	916	922
1		927	932	936	941	945	950	954	957	961	965
2		968	971	974	977	980	982	985	987	989	991
3		992	994	995	996	997	998	999	999	*000	000
4	1,000	000	000	000	*999	*999	*998	*997	*996	*995	*993
5	0,999	992	990	988	986	984	982	979	977	974	971
6		968	965	962	958	954	951	949	943	938	934
7		929	925	920	915	910	904	899	893	888	882
8		876	870	864	857	851	844	837	830	823	816
9		808	801	793	785	778	769	761	753	744	736
10		727	718	709	700	691	681	672	662	652	642
11		632	622	612	601	591	580	569	558	547	536
12		525	513	502	490	478	466	454	442	429	417
13		404	391	379	366	353	339	321	312	299	285
14		271	257	243	229	215	200	184	171	156	141
15		126	111	096	081	065	050	034	018	002	*986

^{0} C			Per sepuluh derajat								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
16	0,998	970	953	937	920	904	887	870	853	835	819
17		801	784	766	749	731	713	695	677	659	640
18		622	603	585	566	547	528	509	490	471	451
19		432	412	392	372	352	332	312	292	271	251
20		230	210	189	168	147	126	105	083	062	040
21		019	*997	*975	*953	*931	*909	*887	*864	*842	*819
22	0,997	797	774	751	728	705	682	659	635	612	588
23		565	541	517	493	469	445	421	396	372	347
24		323	298	273	248	223	198	173	147	122	096
25		071	045	091	*994	*968	*941	*915	*889	*863	*836
26	0,996	810	783	756	730	703	676	648	621	594	567
27		539	512	484	456	428	400	372	344	316	288
28		259	231	202	174	145	116	087	058	029	000
29	0,995	971	941	912	882	853	823	793	763	733	703
30		673	643	613	582	552	521	491	460	429	398
31		367	336	305	273	242	211	179	148	116	084
32		052	020	*998	*956	*924	**92	*859	*827	*794	*762
33	0,994	729	696	663	630	597	564	531	498	464	431
34		398	364	330	296	263	229	195	161	126	092
35		058	023	*989	*954	*920	*885	*850	*815	*780	*745
	0,993										

Catatan: Nilai yang diberi tanda * telah mengenai bilangan baris lanjutan.

Sumber: Wisseusch, Abh. D. Phys. Tech. Reichsaustalt, 3, 68, 1900.

4. Refleksi

Petunjuk :

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?

   ………………………………………………………………………………………………..

……………………………………………………………………………………………………..

……………………………………………………………………………………………………..

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

   ……………………………………………………………………………………………………..

5. Tes Formatif

1. Apa yang dimaksud dengan menganalisis bahan hasil pertanian secara fisik,
2. Jelaskan ruang lingkup analisis bahan hasil pertanian secara fisik !
3. Uraikan prosedur kerja analisis warna
4. Jelaskan yang dimaksud dengan kalibrasi
5. Apa yang dimaksud dengan istilah destruktif dan non destruktif dari suatu pengujian

6. Uraikan prosedur kerja pengukuran bahan dengan menggunakan mikrometer
7. Jelaskan definisi Indek refraksi
8. Jelaskan tujuan analisis indeks bias/ refraksi
9. Jelaskan yang dimaksud dengan viscositas atau kekentalan
10. Uraikan cara perawatan peralatan refraktometer AB
11. Jelaskan pengertian titik leleh an titik didih
12. Jelaskan masing- masing cara pengujian titik leleh dan titik didih
13. Apa yang dimaksud dengan berat jenis dan sebutkan nama alat untuk analisisnya

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Skala penilaian sikap dibuat dengan rentang antara 1 s.d 4.

1 = BT (belum tampak) *jika* sama sekali tidak menunjukkan usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas

2 = MT (mulai tampak) *jika* menunjukkan sudah ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas tetapi masih sedikit dan belum ajeg/konsisten

3 = MB (mulai berkembang) *jika* menunjukkan ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas yang cukup sering dan mulai ajeg/konsisten

4 = MK (membudaya) *jika* menunjukkan adanya usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas secara terus-menerus dan ajeg/konsisten

No.	Sikap	Religius				Disiplin				Tanggug jawab				Peduli				Responsif				Teliti				Jujur				Santun			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Mengamati																																
2	Menanya																																
3	Mengeksplorasi																																
4	Mengasosiasikan																																
5	Mengkomunikasikan																																

2. Penilaian Pengetahuan

a. Jelaskan ruang lingkup analisis bahan hasil pertanian secara fisik !
b. Uraikan prosedur kerja analisis warna
c. Apa yang dimaksud dengan istilah destruktif dan non destruktif dari suatu pengujian
d. Uraikan prosedur kerja pengukuran bahan dengan menggunakan mikrometer
e. Jelaskan yang dimaksud dengan viscositas atau kekentalan
f. Uraikan cara perawatan peralatan refraktometer AB
g. Jelaskan masing- masing cara pengujian titik leleh dan titik didih
h. Apa yang dimaksud dengan berat jenis dan sebutkan nama alat untuk analisisnya

3. Penilaian Keterampilan

NO	ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
		1	2	3
1.	Menyiapkan alat untuk praktikum			
2.	Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum			
5.	Melaksanakan langkah kerja sesuai prosedur			
6.	Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung			
7.	Melakukan pencatatan data			
8.	Menghitung/mengolah data hasil pengamatan			
9.	Membuat laporan hasil praktum			
10.	Membersihkan lingkungan praktikum			

Rubrik :

ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
	1	2	3
Menyiapkan alat untuk praktikum	Alat tidak disiapkan	Alat disiapkan tidak sesuai dengan diperlukan	Alat disiapkan sesuai dengan yang diperlukan
Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum	Bahan yang digunakan tidak lengkap	Bahan yang digunakan lengkap tapi ada yang tidak dibutuhkan	Bahan yang digunakan lengkap dan sesuai dengan yang dibutuhkan
Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung	Pengamtan tidak cermat	Pengamatan cermat, tetapi mengandung interpretasi	Pengamatan cermat dan bebas interpretasi
Melakukan pencatatan data pengamatan	Data pengamatan tidak dicatat	Data pengamatan dicatat tetapi ada kesalahan	Data pengamtan dicatat dengan lengkap
Menghitung/ mengolah data hasil pengamatan	Perhitungan data hasil pengamatan salah	Perhitungan data hasil pengamatan benar tetapi tidak sesuai dengan rumus	Perhitungan data hasil pengamatan benar dan lengkap sesuai rumus
Membuat laporan hasil praktikum	Laporan hasil praktikum tidak dibuat	Laporan hasil praktikum rapi dan tidak lengkap	Laporan hasil praktikum rapi dan lengkap
Membersihkan lingkungan tempat praktikum	Lingkungan tempat praktikum tidak dibersihkan	Lingkungan tempat praktikum dibersihkan dan tidak rapi	Lingkungan tempat praktikum dibersihkan dengan rapi.

Kegiatan Pembelajaran 2. Pengujian Hasil Pertanian dan Perikanan Secara Kimiawi

A. Deskripsi

Pengujian hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi merupakan salah satu kompetensi dasar kejuruan dari mata pelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan peserta didik SMK pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan. Kompetensi dasar ini merupakan dasar kejuruan pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan yang bertujuan untuk memantapkan pemahaman fakta, konsep, prinsip dan prosedur serta metakognitif mengenai pengujian hasil petanian dan perikanan secara kimiawi. Pelaksanaannya meliputi langkah-langkah pembelajaran mengamati, menanya, mengeksplorasi keterampilan proses dalam bentuk eksperimen, mengasosiasi, dan mengkomunikasikan hasil pengamatan dan percobaan, kesimpulan berdasarkan hasil pengamatan/analisis secara lisan, tertulis, atau media lainnya. Media yang digunakan meliputi alat dan bahan praktikum serta in focus. Penguasaan materi peserta didik dievaluasi melalui sikap, pengetahuan dan keterampilan.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari tentang pengujian hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi, peserta didik diharapkan mampu:

a. Melakukan dasar pengujian karbohidrat bahan hasil pertanian dan perikanan
b. Melakukan dasar pengujian protein bahan hasil pertanian dan perikanan
c. Melakukan dasar pengujian lemak bahan hasil pertanian dan perikanan
d. Melakukan dasar pengujian air bahan hasil pertanian dan perikanan
e. Melakukan dasar pengujian abu bahan hasil pertanian dan perikanan

2. Uraian Materi

a. Bahan Pangan

Pangan adalah makanan atau bahan hasil pertanian dan olahannya yang layak dikonsumsi manusia. Bahan pangan dikenal mempunyai sifat fisik, kimiawi, biologis, serta mampu menimbulkan selera dan manfaat untuk dikonsumsi. Oleh sebab itu, analisis/pengujian pangan dapat dilakukan dengan menggunakan kaidah-kaidah fisik, kimiawi, biologi, indrawi atau sensorik, dan nutrisi atau gizi.

Analisis berasal dari kata "analusis" dari bahasa yunani. Istilah tersebut kemudian diserap kedalam bahasa laitin yang mempunyai arti yaitu; *Ana* = kembali, dan *luein* = melepasI. Berdasarkan kata asal kata itulah analisis diartikan sebagai upaya pemisahan atau penguraian suatu kesatuan materi bahan menjadi komponen senyawa-senyawa penyusun, sehingga hasil (data) yang diperoleh dapat dikaji lebih lanjut. Dalam bahasa inggris "analysis" mempunyai pengertian analisis secara tunggal, sedangkan "analyses" mempunyai pengertian jamak. (Anang Mohamad Legowo dan Nurwantoro, 2004)

Analisis/pengujian kimiawi adalah penentuan kandungan senyawa kimia dalam bahan pangan yang didasarkan pada reaksi kimia. Senyawa kimia yang akan ditentukan konsentrasinya direaksi atau direduksi dengan menggunakan senyawa kimia spesifik, selanjutnya dilakukan penentuan konsentrasinya.

b. Tujuan Analisis Pangan

1) Menguraikan komponen-komponen bahan pangan (baik jenis maupun jumlahnya), sehingga dapat disusun komposisi bahan pangan tersebut.

2) Menentukan suatu komponen bahan untuk menentukan kualitas bahan pangan tersebut.
3) Menentukan komponen bahan untuk menyusun menu.
4) Menentukan ada/tidaknya ikatan/tambahan terhadap bahan pangan tersebut.
5) Mendeteksi adanya bahan metabolik senyawa beracun dalam bahan pangan tersebut.
6) Mengikuti terjadinya perubahan selam penanganan/pengolahan.

Komponen bahan pangan merupakan senyawa kimia yang memiliki karakteristik tertentu. Komponen utama bahan pangan terdiri dari air, protein, karbohidrat vitamin mineral dan beberapa senyawa minor lain.

Akan tetapi komponen komponen bahan pangan tersebut sering dikelompokan kedalam tiga golongan, yaitu: air, makronutrien (karbohidrat, lemak, protein), dan mikronutrien (vitamin dan mineral).

c. Sampel bahan analisis/pengujian

1) Penanganan sampel uji

Sampel diterima dari konsumen atau yang diperoleh dari proses pengambilan sampel harus segera ditangani untuk mencegah terjadinya perubahan. Setelah ditangani, sampel diberi label dan disimpan hingga waktu analisis. Label yang diberikan memuat semua informasi yang dibutuhkan berkaitan dengan pengujian. Informasi harus tertulis jelas, akurat, dan dapat dibaca. Sampel yang telah diberi label kemudian dicatat di dalam buku penerimaan sampel. Pencatatan ini dimaksudkan untuk memudahkan penelusuran, apabila diperlukan dikemudian hari. Setelah dicatat, lakukan pencatatan kebutuhan yang berkaitan dengan

pengujian sampel. Hal penting lainnya adalah menjaga integritas sampel dan mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi silang.

2) Menyiapkan sampel

Ada beberapa tahap yang berkaitan dengan penyiapan sampel uji, yaitu identifikasi, pencatatan, dan penyiapan sampel. Dalam penyiapan sampel, penggunaan peralatan pelindung diri harus digunakan sesuai dengan metode standar dan persyaratan keselamatan.Pelindung yang harus digunakan tergantung dari sampel yang akan dianalisis. Beberapapelindung diri adalah kacamata, sepatu dan baju ("jaslab")khusus laboratorium.Pengambilan sampel dapat dilakukandengan cara coning (pembagiansecara mekanis) atau menggunakan alat *riffle divider* (Gambar 8).



Gambar 8. Riffle Sample Divider- (Rsd-01)

Sumber : www_shambhaviimpex_compcat-gifs-products-small-.htm

Dalam penyiapan sampel sering harus memberikan perlakuan khusus terhadap sampel, misalnya pengabuan, pelarutan, penyaringan dan sentrifugasi. Tujuan dari perlakuan tersebut adalah untuk memudahkan dalam proses pengujian. Bahan yang akan diuji diidentifikasi sesuai dengan metode standar dan persyaratan keselamatan. Identifikasi ini bertujuan untuk memudahkan pelaksanaan analisis. Informasi deskripsi

bahan uji yang diperoleh selama identifikasi selanjutnya dicatat dan dibandingkan dengan spesifikasi. Bila terdapat ketidaksesuaian diantara keduanya, segera dicatat dan dilaporkan. Setelah semuanya tercatat, sampel disiapkan mengikuti metode standar yang sesuai.

3) Pengujian sampel

Pengujian sampel merupakan langkah berikutnya yang harus dilakukan. Untuk menghasilkan data yang benar, perlu dilakukan penyiapan dan kalibrasi peralatan, prosedur pengujian, penyiapan sampel dan standar, dan pereaksi serta instrumen. Peralatan perlu dipersiapkan dan diperiksa secara cermat. Bila diperlukan lakukan proses kalibrasi secara benar, berdasarkan metode standar yang sesuai. Penyiapan pemeriksaan peralatan dilakukan untuk menjamin bahwa hasil analisis benar-benar akurat. Penyiapan sampel dan standar pengujian berdasarkan metode standar yang sesuai agar hasil pengujian yang diterima oleh pihak lain, terutama untuk kegiatan ekspor. Demikian pula dengan prosedur pengujian yang dilaksanakan berdasarkan metode standar. Pengujian sampel dilakukan berdasarkan SNI, AOAC atau dalam kasus tertentu disesuaikan dengan keinginan konsumen atau negara tertentu. Pereaksi dan instrumen sesuai dengan peralatan dan metode pengujian yang akan digunakan.

d. Jenis-jenis Pengujian Secara Kimia

1) Pengujian Kandungan Karbohidrat

Karbohidrat merupakan salah satu komponen nutrisi yang banyak dimanfaatkan sebagai sumber pangan. Dengan demikian, keberadaannya dalam bahan pangan sangat penting. Keberadaan

karbohidrat dalam bahan pangan dinyatakan dalam bentuk gula, glukosa, sakarosa, pati atau serat kasar.

Karbohidrat merupakan kelompok nutrien penting di dalam menu/diet dan berfungsi sebagai sumber energi. Karbohidrat mengandung unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O). Karbohidrat diproduksi di dalam tanaman melalui proses fotosintesis.

Karbohidrat dibagi menjadi 3 kelompok utama didasarkan atas ukuran dari molekulnya, yaitu monosakarida, disakarida, dan polisakarida. Monosakarida dan disakarida sering dikenal juga dengan sebutan gula (*sugar*). Sedangkan polisakarida dikenal sebagai non gula (*non-sugars*), misalnya pati. Pengelompokan atau pembagian karbohidrat berdasarkan ukuran molekulnya diklasifikasikan sebagai berikut : monosakarida, oligosakarida, polisakarida. Monosakarida terdiri atas 1 unit glukosa. Oligosakarida merupakan kelompok karbohidrat yang terdiri atas 2-10 unit monosakarida, sedangkan polisakarida terdiri atas banyak (lebih dari 10) unit monosakarida.

Untuk menghasilkan data yang akurat, analisis karbohidrat harus diawali dengan persiapan sampel secara baik, persiapan peralatan, pereaksi, dan metode analisis, pelaksanaan analisis, dan akhirnya perhitungan. Persiapan sampel yang dikerjakan berdasarkan prosedur yang benar.

Analisis kualitatif karbohidrat Karbohidrat merupakan senyawa metabolit primer selain protein dan lipid. Karbohidrat mempunyai peranan yang penting dalam kehidupan manusia, antara lain adalah sebagai sumber tenaga dan penghasil panas tubuh. Adanya karbohidrat dapat diidentifikasi dengan menggunakan berbagai macam metode.

Banyak cara yang dapat digunakan untuk menentukan banyaknya karbohidrat dalam suatu bahan yaitu antara lain dengan cara kimiawi, cara fisik, cara enzimatik atau biokimiawi dan cara kromatografi. Dalam ilmu dan teknologi pangan, analisa karbohidrat yang biasa dilakukan misalnya menentukan jumlahnya secara kuantitatif dalam rangka menentukan komposisi suatu bahan makanan, penentuan sifat fisis atau kimiawinya yang berkaitan dengan kekentalan, kelekatan, stabilitas larutan dan tekstur hasil olahannya.

Karbohidrat yang berbentuk polimer memiliki ukuran molekul yang sangat besar dan kompleks serta memiliki satuan monomer berbagai jenis menyebabkan karbohidrat sulit ditentukan jumlah sebenarnya. Sering jumlah karbohidrat hanya dapat dinyatakan sebagai jumlah monomer penyusunnya saja misalnya sebagai heksosa atau pentosa total. Bahkan untuk senyawa polimer yang homogen misalnya pati yang terdiri dari monomer glukosa saja, masih memerlukan kurva standar yang menunjukan hubungan antara jumlah pati murni dengan indikatornya (misalnya gula reduksi hasil hidrolisanya). Karena terdapat perbedaan ukuran molekul antara jenis pati yang satu dengan yang lainnya dan sulit mendapatkan pati yang betul-betul murni yang bebas air dan senyawa-senyawa lain, maka cara analisa penentuan jumlah pati yang sebenarnya menjadi sangat sulit.

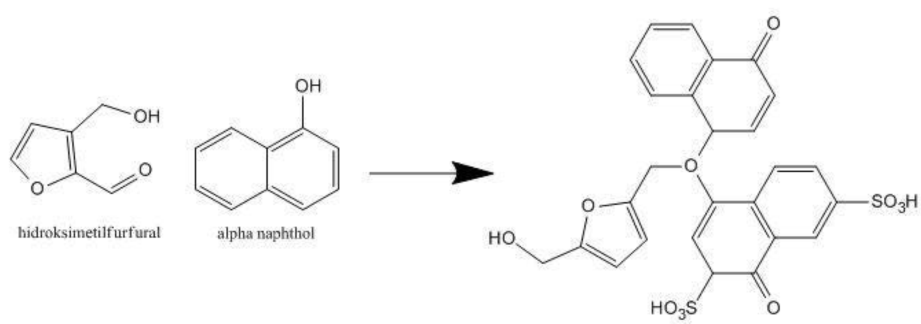
Macam-macam Uji Karbohidrat

Penentuan karbohidrat yang paling mudah adalah dengan cara perhitungan kasar *(proximate analysis)* atau disebut juga *Carbohydrate by Difference*. Yang dimaksud dengan *proximate analysis* adalah suatu analisis di mana kandungan karbohidrat termasuk serat kasar diketahui bukan melalui analisis tetapi melalui perhitungan: **% karbohidrat = 100% - % (protein + lemak + abu + air).** Perhitungan *Carbohydrate*

by Difference adalah penentuan karbohidrat dalam bahan makanan secara kasar, hasilnya biasanya dicantumkan dalam daftar komposisi bahan makanan.

a) Uji Molisch

Uji Molisch merupakan uji yang paling umum untuk karbohidrat. Uji Molisch sangat efektif untuk senyawa-senyawa yang dapat didehidrasi oleh asam pekat menjadi senyawa furfural yang tersubstitusi, seperti hidroksimetilfurfural. Warna yang terjadi disebabkan oleh kondensasi furfural atau derivatnya dengan alfa-naftol menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah-ungu.



Thymol dapat dipakai sebagai pengganti alfa-naftol. Ia juga lebih stabil daripada alfa-naftol dan pada penyimpanan yang lama tidak berubah warna.

b) Uji Benedict

Uji Benedict dan uji Barfoed keduanya berdasarkan resuksi Cu2+ menjadi Cu+. Pada proses reduksi kupri dalam suasana alkalis biasanya ditambahkan zat pengompleks seperti sitrat pada larutan Benedict atau tartrat pada larutan Fehling, hal ini dilakukan untuk mencegah pengendapan CuCO3 dalam larutan natrium karbonat pada Benedict, sedangkan pada Fehling untuk mencegah pengendapan Cu(OH)2 atau CuO dalam larutan natirum hidroksida.

Produk oksidasi karbohidrat dalam larutan alkalis sangat kompleks dan banyak jumlahnya, belum semuanya dapat diidentifikasi yaitu berwarna hijau, merah, oranye, dan pembentukan endapan merah bata. Tidak seperti maltosa dan laktosa, sukrosa tidak dapat mereduksi Benedict, karena ia tidak memiliki gugus aldehida atau gugus keto bebas.

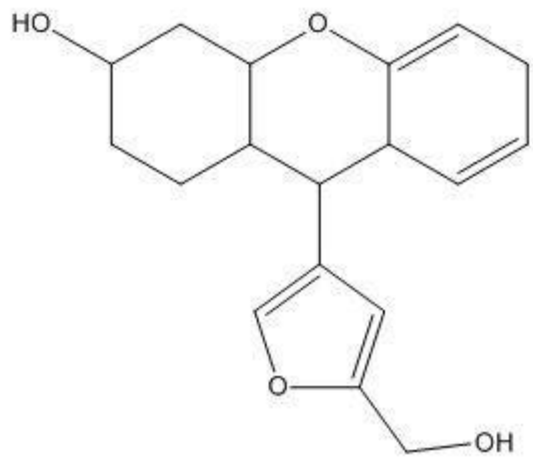
c) Uji Barfoed

Merupakan uji untuk membedakan karbohidrat golongan monosakarida dan disakarida . Prinsipnya adalah reduksi Cu2+ yang terdapat dalam pereaksi barfoed oleh gugus pereduksi pada monosakarida, dalam suasana asam. Reaksi positif ditunjukan dengan munculnya endapan merah orange.Komposisi pereaksi barfoed adalah : 48 g tembaga asetat, 50 ml asam laktat 85% air ad 1000 ml.

Dengan menggunakan reagen Barfoed yang mengandung koper asetat di dalam asam asetat, maka kita dapat juga membedakan monosakarida dan disakarida dengan jalan mengontrol kondisi-kondisi seperti pH dan waktu pemanasan.

d) Uji Seliwanoff

Reaksi spesifik lainnya untuk uji karbohidrat tertentu adalah uji Seliwanoff dan uji Foulger. Reaksi Seliwanoff disebabkan perubahan fruktosa oleh asam klorida panas menjadi asam levulinat dan hidroksimetilfurfural. Selanjutnya kondensasi hidroksimetilfurfural dengan resorsinol menghasilkan senyawa kompleks berikut yang berwrna merah:



Sukrosa yang mudah dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa, memberi reaksi positif dengan uji Seliwanoff. Pada pendidihan lebih lanjut, aldosa-aldosa memberikan warna merah dengan reagen Seliwanoff, karena aldosa-aldosa tersebut diubah oleh HCl menjadi ketosa.

e) Uji Fenilhidrazin

Karbohidrat (kecuali manosa) yang memiliki gugus fungsional aldehid atau keton, membentuk osazon dengan fenilhidrazin. Glukosa dan fruktosa memberikan osazon yang sama karena monosakarida-monosakarida tersebut tidak mempunyai letak susunan gugus -H dan -OH yang sama pada atom akrbon 3, 4, 5, dan 6. Manosa tidak membentui osazon di dalam larutan air, tetapi mebentuk fenilhidrazin yang tidak larut.

2) Pengujian Kandungan Protein

Istilah Protein berasal dari kata "*protos*" (Yunani), berarti yang paling utama", adalah senyawa organik kompleks berbobotmolekul tinggi yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Molekul protein

mengandung karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan kadang kala sulfur serta fosfor. Protein berperan penting dalam struktur dan fungsi semua sel makhluk hidup dan virus.Kebanyakan protein merupakan enzimatau subunit enzim. Jenis protein lain berperan dalam fungsi struktural atau mekanis, seperti misalnya protein yang membentuk batang dan sendi sitoskeleton. Protein terlibat dalam sistem kekebalan (imun) sebagai antibodi, sistem kendali dalam bentuk hormon, sebagai komponen penyimpanan (dalam biji) dan juga dalam transportasi hara. Sebagai salah satu sumber gizi, protein berperan sebagai sumber asam amino bagi organisme yang tidak mampu membentuk asam amino tersebut (heterotrof).

Protein merupakan salah satu dari biomolekul raksasa, selain polisakarida, lipid, dan polinukleotida, yang merupakan penyusun utama makhluk hidup. Selain itu, protein merupakan salah satu molekul yang paling banyak diteliti dalam biokimia. Protein ditemukan oleh Jöns Jakob Berzelius pada tahun 1838.

Struktur Protein

Bagaimana suatu protein dapat memerankan berbagai fungsi dalam sistem makhluk hidup? Jawabnya adalah terletak pada strukturnya. Struktur protein terdiri atas empat macam struktur.

a) **Struktur primer**

Struktur ini terdiri atas asamasam amino yang dihubungkan satu sama lain secara kovalen melalui ikatan peptida. Informasi yang menentukan urutan asam amino suatu protein tersimpan dalam molekul DNA dalam bentuk kode genetik. Sebelum kode genetik ini diterjemahkan menjadi asam-asam amino yang membangun struktur primer protein, mula-mula kode ini disalin kedalam bentuk kode lain yang berpadanan dengan urutan kode genetik pada DNA,

yaitu dalam bentuk molekul RNA. Urutan RNA inilah yang kemudian diterjemahkan menjadi urutan asam amino

b) Struktur sekunder.

Pada struktur sekunder, protein sudah mengalami interaksi intermolekul, melalui rantai samping asam amino. Ikatan yang membentuk struktur ini, didominasi oleh ikatan hidrogen antar rantai samping yang membentuk pola tertentu bergantung pada orientasi ikatan hidrogennya. Ada dua jenis struktur sekunder, yaitu: α-heliks dan β-sheet. β-sheet itu sendiri ada yang paralel danjuga ada yang anti-paralel,bergantung pada orientasi kedua rantai polipeptida yang membentuk struktur sekunder tersebut.

c) Struktur tersier

Struktur ini terbentuk karena struktur-struktur sekunder yang dikemas sedemikian rupa membentuk struktur tiga dimensi. Struktur ruang ini adalah struktur ketiga atau struktur tersier. Disini interaksi intra molekuler seperti ikatan hidrogen, ikatan ion, van der Waals, hidropobik dan lainnya turut menentukan orientasi struktur tiga dimensi dari protein

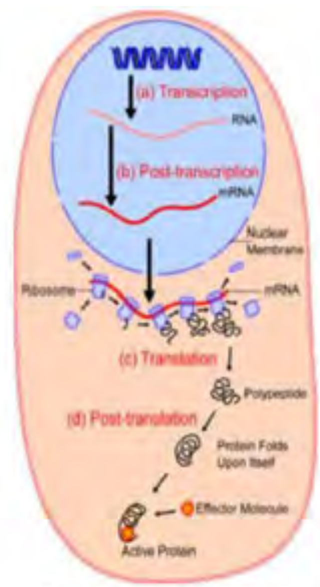
d) Strukur kuartener

Banyak molekul protein yang memiliki lebih dari satu struktur tersier, dengan kata lain multi subunit. Intraksi intermolekul antar sub unit protein in membentuk struktur keempat/ kwaterner. Setiap subunit protein dapat melakukan komunikasi dan saling mempengaruhi satu sama lain melalui interaksi intermolekular.

Sintesis Protein

Biosintesis protein alami sama dengan ekspresi genetik. Kode genetik yang dibawa DNA ditranskripsi menjadi RNA, yang berperan sebagai cetakan bagi translasi yang dilakukan ribosom. Sampai tahap ini,

protein masih "mentah", hanya tersusun dari asam amino proteinogenik. Melalui mekanisme pascatranslasi, terbentuklah protein yang memiliki fungsi penuh secara biologi.



Gambar 8.7. Sintesis Protein
Sumber : www.biocrawler.com

Fungsi Protein



Sumber : http://www.sabah.edu

Protein sangat penting sebagai sumber asam amino yang digunakan untuk membangun struktur tubuh. Selain itu protein juga bisa

digunakan sebagai sumber energi bila terjadi defisiensi energi dari karbohidrat dan/atau lemak. Apabila protein digunakan sebagai sumber energi, akan menghasilkan residu nitrogen yang harus dikeluarkan dari tubuh. Pada mamalia residu nitrogen adalah urea, sedangkan pada unggas disebut asam urat.

Sumber Protein

Kita memperoleh protein dari makanan yang berasal dari hewan atau tumbuhan. Protein yang berasal dari hewan disebut protein hewani, sedangkan protein yang berasal dari tumbuhan disebut protein nabati. Beberapa makanansumber protein ialah daging, telur, susu, ikan, beras, kacang, kedelai, gandum, jagung, dan beberapabuah-buahan.



Gambar 8.8. Bahan Makanan Berprotein Tinggi
Sumber: www.thompsonhighereducation.com

Bahan makanan sebagai sumber energi akan mengandung protein atau asam amino yang tinggi, tetapi tidak semua bahan makanan yang mengandung protein dan asam amino yang tinggi dapat seluruhnya dimanfaatkan oleh tubuh, tergantung dari kualitas proteinnya.

Tabel 9. Perbandingan Kadar Protein Beberapa Bahan Makanan

Bahan Makanan	Protein (% Berat)
Susu skim kering	36,00
Kedelai	35,00
Kacang hijau	22,00
Daging	19,00
Ikan segar	17,00
Telur ayam	13,00
Jagung	9,20
Beras	6,80
Tepung singkong	1,10

Sumber : Daftar Komposisi Bahan Makanan, Depkes 1979

Protein yang berasal dari hewan memiliki semua asam amino esensial, hingga disebut protein lengkap. Sedangkan sumber protein nabati merupakan protein tidak lengkap, senantiasa mempunyai kekurangan satu atau lebih asam amino esensial. Sebab itu cara mengkonsumsinya harus dikombinasikan agar saling melengkapi. Perbedaan kelengkapan itu mengakibatkan ia hanya mampu memelihara jaringan tubuh, sedangkan protein hewani mampu memelihara jaringan tubuh dan menjamin pertumbuhannya. Agar asam aminonya layak disebut sebagai protein lengkap, protein nabati bisa dikomsumsi dengan sesamanya. Misalnya padi-padian (kaya dengan methionin) dengan biji-bijian (kaya dengan lisin dan triptofan). Dalam hal ini terdapat pada nasi dengan tahu atau perkedel jagung.

Protein hewani tetap penting bagi tubuh dan tak dapat digantikan seratus persen oleh protein nabati. Jika dianggap terlalu mahal, cukup mengkonsumsi sehari sekali, misalnya ikan dan telur. Kelebihan protein tidak baik, karena dapat mengganggu metabolisme protein yang berada di hati. Ginjal pun akan terganggu tugasnya, karena bertugas membuang hasil metabolisme protein yang tidak terpakai. Kekurangan protein akan membuat mudah merasa lelah, tekanan darah turun, dan daya

tahan terhadap infeksi menurun. Pada anak-anak,selain mudah terserang penyakit kwashiorkor (kekurangan protein), juga pertumbuhan dan tingkat kecerdasannya akan terganggu.

Karena sistem imunitas tubuh sangat bergantung pada tersedianya protein yang cukup, maka anak-anak yang mengalami kurang protein mudah terserang infeksi seperti diare, infeksi saluran pernapasan, TBC, polio, dan lainlain. Kurang energi protein (KEP) dapat dikategorikan dalam tiga jenis yaituringan, sedang, dan berat. Busung lapar terjadi karena KEP berat atau gizi buruk. Seorang balita dikatakan mengalami KEP berat atau gizi buruk apabila berat badan menurut umur kurang dari 60% baku median WHO-NCHS (*Nutrition Child Health Statistic*). Atau berat badan menurut tinggi badan kurang dari 70% baku median WHO-NCHS.

Pengaruh Proses Pengolahan Pangan Terhadap Mutu Protein

Proses Pengolahan Susu

Proses pengolahan susu cair dengan teknik sterilisasi atau pengolahan menjadi susu bubuk sangat berpengaruh terhadap mutu sensoris dan mutu gizinya terutama vitamin dan protein. Terjadi kerusakan protein sebesar 30 persen pada pengolahan susu cair menjadi susu bubuk. Sebaliknya pengolahan susu cair segar menjadi susu UHT sangat sedikit pengaruhnya terhadap kerusakan protein. Kerusakan protein pada pengolahan susu dapat berupa terbentuknya pigmen coklat (melanoidin) akibat reaksi Mallard (Reaksi pencoklatan non enzimatik yang terjadi antara gula dan protein susu akibat proses pemanasan yang berlangsung dalam waktu yang cukup lama seperti pada proses pembuatan susu bubuk). Dimana reaksi pencoklatan tersebut menyebabkan menurunnya daya cerna protein.

Tabel 10. Pengaruh Perlakuan Panas Terhadap Kandungan Lisin Susu Pasteuriasasi

Perlakuan panas	Rata-rata Kehilangan lisin *
Susu pasteuriasasi	1,8
UHT langsung	3,8
UHT tidak Langsung	5,7
Sterilisasi dalam polyethylene	8,9
Sterilisasi dalam gelas (kaca)	11,3

Sumber : Saleh (2004)
* (mean osses (%) of available lysine)

Proses pemanasan susu dengan suhu tinggi dalam waktu yang cukup lama juga dapat menyebabkan terjadinya rasemisasi asam-asam amino yaitu perubahan konfigurasi asam amino dari bentuk L ke bentuk D. Tubuh manusia umumnya hanya dapat menggunakan asam amino dalam bentuk L. Proses rasemisasi sangat merugikan dari sudutpandang ketersediaan biologis asam-asam amino di dalam tubuh. Reaksi pencoklatan (Maillard) dan rasemisasi asam amino telah berdampak kepada menurunnya ketersedian lisinpada produk - produk olahan susu. Dimana Penurunan ketersediaan lisin pada susu UHT relatif kecil yaitu hanya mencapai 0-2 persen, sedangkan pada susu bubuk penurunannya dapat mencapai 5-10 persen.

Proses Pembekuan daging

Pada daging yang mengalami pembekuan, kehilangan nutrien daging beku terjadi selama penyegaran kembali, yaitu adanya nutrien yang terlarut dalam air dan hilang bersama cairan daging yang keluar (eksudasi cairan) yang lazim disebut *drip.* Jumlah nutrien yang hilang dari daging beku bervariasi, tergantung pada kondisi pembekuan dan penyegaran kembali. Nutrien (konstituen) didalam cairan *drip,* antara

lain terdiri atas bermacam-macamgaram, protein, peptida, asamasam amino, asam laktat, purin, dan vitamin yang larut dalam air, termasuk vitamin B kompleks. Selama penyimpanan beku dapat terjadi perubahan protein otot. Jumlah konstituen yang terkandung didalam *drip* berhubungan dengan tingkat kerusakan sel pada saat pembekuan dan penyimpana beku. Dua faktor yang mempengaruhi jumlah *drip* yaitu : (1) besarnya cairan yang keluar dari daging, dan (2) faktor yang berhubungan dengan daya ikat ai oleh protein daging.

Kerusakan protein merupakan fungsi dan waktu dan temperatur pembekuan. Jadi jumlah *drip* cenderung meningkat dengan meningkatnya waktu penyimpanan. Misalnya, kerusakan protein miofibrilar dan sarkoplasmik meningkat pada temperatur pembekuan -40oC dengan semakin lamanya penyimpanan. Laju pembekuan dan ukuran kristal es yang terbentuk ikut menentukan jumlah *drip.* Pada laju pembekuan yang sangat cepat, struktur daging tidak mengalami perubahan. Sedangkan pada laju pembekuan yang lambat, kristal es mulai terjadi diluar serabut otot (ekstraselular), pembentukan kristal es ekstraselular berlangsung terus, sehingga cairan ekstraselular yang tersisa dan belum membeku akan meningkat kekuatan fisiknya dan menarik air secara osmotik daribagian dalam sel otot yang sangat dingin. Air ini membeku pada kristal es yang sudah terbentuk sebelumnya dan menyebabkan kristal es membesar. Kristal-kristal yang besar ini menyebabkan distorsi dan merusak serabut otot serta sarkolema. Kekuatan ionik cairan ekstraselular yang tinggi, juga menyebabkan denaturasi sejumlah protein otot. Denaturasi protein menyebabkan hilangnya daya ikat protein daging, dan pada saat penyegaran kembali terjadi kegagalan serabut otot menyerap kembali semua air yang menaglami translokasi atau keluar pada proses pembekuan.

Pengujian protein

Secara rutin, analisa protein dalam bahan makanan yang terutama adalah untuk tujuan menera jumlah kandungan protein dalam bahan makanan. Peneraan jumlah protein dalam bahan makanan umumnya dilakukan berdasarkan peneraan empiris (tidak langsung), yaitu melalui penentuan kandungan N yang ada dalam bahan. Penentuan dengan cara langsung atau absolut, misalnya dengan pemisahan, pemurnian atau penimbangan protein, akan memberikan hasil yang lebih tepat tetapi juga sangat sukar, membutuhkan waktu lama, keterampilan tinggi dan mahal.

Peneraan jumlah protein secara empiris yang umum dilakukan adalah dengan menentukan jumlah nitrogen (N) yang dikandung oleh suatu bahan. Cara penentuan ini dikembangkan oleh Kjeldahl, seorang ahli ilmu kimia Denmark pada tahun 1883.

Dalam penentuan protein, seharusnya hanya nitrogen yang berasal dari protein saja yang ditentukan. Akan tetapi secara teknis hal ini sulit sekali dilakukan dan mengingat jumlah kandungan senyawa lain selain protein dalam bahan biasanya sangat sedikit, maka penentuan jumlah N total ini tetap dilakukan untuk mewakili jumlah protein yang ada. Kadar protein yang ditentukan berdasarkan cara Kjeldahl ini dengan demikian sering disebut kadar protein kasar (*crude protein*).

Dasar perhitungan penentuan protein menurut Kjeldahl ini adalah hasil penelitian dan pengamatan yang menyatakan bahwa umumnya protein alamiah mengandung unsur N rata-rata 16% (dalam protein murni). Untuk senyawa-senyawa protein tertentu yang telah diketahui kadar unsur N-nya, maka angka yang lebih tepat dapat dipakai. Apabila jumlah unsur N dalam bahan telah diketahui (dengan berbagai cara) maka jumlah protein dapat diperhitungkan dengan :

$$(\%)\text{N} = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml HCl blanko}) \times 0{,}1 \text{ N HCl } \times 14{,}007}{mg\ sampel} \times 100\ \%$$

$$Kadar\ Protein = \%\ N\ \times 6{,}25$$

Untuk campuran senyawa-senyawa protein atau yang belum diketahui komposisi unsur penyusunnya secara pasti, maka faktor perkalian 6,25 inilah yang dipakai. Sedangkan untuk protein tertentu yang telah diketahui komposisinya dengan lebih tepat maka faktor perkalian yang lebih tepatlah yang dipakai. Misalnya faktor perkalian yang telah diketahui adalah :

- 5,70 untuk protein gandum
- 6,38 untuk protein susu
- 5,55 untuk gelatin (kolagen yang terlarut)

Penentuan protein berdasarkan jumlah N menunjukkan protein kasar karena selain protein juga terikut senyawa N bukan protein misalnya urea, asam nukleat, amonia, nitrat, nitrit, asam amino, amida, purin dan pirimidin.

Analisa protein cara Kjeldahl pada dasarnya dapat dibagi menjadi tiga tahapan yaitu destruksi, destilasi dan titrasi :

Sampel didestruksi dengan adanya asam kuat dengan bantuan katalis yang akan mengubah nitrogen amin menjadi ion amonium.

Ion amonium diubah menjadi gas amonia yang selanjutnya dipanaskan dan didestilasi. Gas amonia ditampung dalam larutan penampung yang larut kembali menjadi ion amonium.

Sejumlah amonia yang telah ditampung ditentukan melalui titrasi dengan larutan baku dan selanjutnya dibuat perhitungan.

Tahap Destruksi

Dalam tahap ini sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat sehingga terjadi destruksi menjadi unsur-unsurnya. Pada tahapan ini terjadi pemecahan ikatan polipeptida. Elemen karbon dan hidrogen teroksidasi menjadi CO, CO_2 dan H_2O. Sedangkan nitrogen (N) dalam sampel akan diubah menjadi $(NH_4)_2SO_4$.

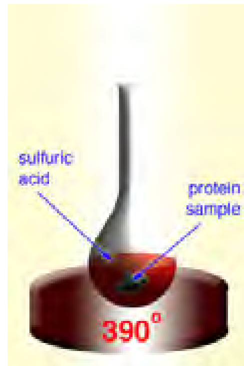
Asam sulfat yang dipergunakan untuk destruksi diperhitungkan adanya bahan protein, lemak dan karbohidrat. Untuk mendestruksi 1 gram protein diperlukan 9 gram asam sulfat, untuk 1 gram lemak diperlukan 17,8 gram, sedangkan 1 gram karbohidrat diperlukan asam sulfat yang paling banyak dan memerlukan waktu destruksi cukup lama, maka sebaiknya lemak dihilangkan lebih dahulu sebelum destruksi dilakukan.

Asam sulfat yang digunakan minimum 10 mL (18,4 gram). Sampel yang dianalisa sebanyak 0,4 – 3,5 gram atau mengandung nitrogen sebanyak 0,02 – 0,04 gram. Untuk cara mikro Kjeldahl bahan tersebut lebih sedikit lagi yaitu 10 – 30 mg.

Untuk mempercepat proses destruksi sering ditambahkan katalisator berupa campuran Na_2SO_4 dan HgO (20:1). Gunning menganjurkan menggunakan K_2SO_4 atau $CuSO_4$. Dengan penambahan katalisator tersebut titik didih asam sulfat akan dipertinggi sehingga destruksi berjalan lebih cepat. Tiap 1 gram K_2SO_4 dapat menaikkan titik didih 3^oC. Suhu destruksi berkisar antara 370 – 410^oC.

Protein yang kaya asam amino histidin dan triptofan umumnya memerlukan waktu yang lama dan sukar dalam destruksinya. Untuk bahan seperti ini memerlukan katalisator yang relatif lebih banyak. Selain katalisator yang telah disebutkan tadi, kadang-kadang juga diberikan selenium. Selenium dapat mempercepat proses oksidasi

karena selain menaikkan titik didih, selenium juga mudah mengadakan perubahan dari valensi tinggi ke valensi rendah atau sebaliknya.



Sumber: (brooklyn.cuny.edu)

Reaksi yang terjadi selama destruksi bila digunakan HgO :

$HgO + H_2SO_4 \rightarrow HgSO_4 + H_2O$

$2HgSO_4 \rightarrow Hg_2SO_4 + SO_2 + 2O_n$

$Hg_2SO_4 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2Hg_2SO_4 + 2H_2SO_4 + SO_2$

$(CHON) + O_n + H_2SO_4 \rightarrow CO_2 + H_2O + (NH_4)_2SO_4$

Amonium sulfat yang terbentuk dapat bereaksi dengan merkuri oksida membentuk senyawa kompleks. Apabila dalam destruksi menggunakan raksa sebagai katalisator maka sebelum proses destilasi Hg harus diendapkan lebih dahulu dengan K_2S atau dengan tiosulfat agar senyawa kompleks merkuri-amonia pecah menjadi amonium sulfat.

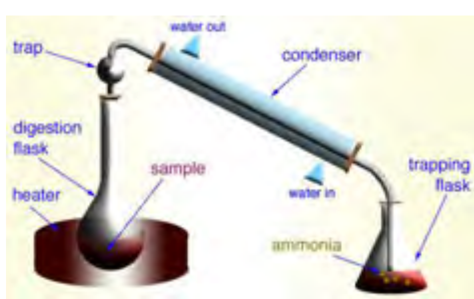
Penggunaan selenium lebih reaktif dibandingkan merkuri dan kupri sulfat, tetapi selenium mempunyai kelemahan yaitu karena oksidasi yang sangat cepat maka nitrogennya justru mungkin ikut hilang. Hal ini dapat diatasi dengan pemakaian selenium yang sangat sedikit yaitu kurang dari 0,25 gram.

Berbeda dengan merkuri, pemakaian selenium sebagai katalisator tidak perlu diberikan perlakuan lagi sebelum destilasi dimulai. Proses destruksi sudah selesai apabila larutan menjadi jernih atau tidak berwarna. Agar analisa lebih tepat maka pada tahap destruksi ini dilakukan pula perlakuan blanko yaitu untuk koreksi adanya senyawa N yang berasal dari pereaksi yang digunakan.

Tahap Destilasi

Pada tahap destilasi, amonium sulfat yang larut dalam air diubah menjadi ammonia (NH_3) yang berbentuk gas dengan penambahan NaOH sampai alkalis (pH dinaikan)dan dipanaskan. Agar selama destilasi tidak terjadi *superheating* ataupun pemercikan cairan atau timbulnya gelembung gas yang besar maka dapat ditambahkan logam zink (Zn). Ammonia yang dibebaskan selanjutnya akan ditangkap oleh larutan asam standar.

Asam standar yang dapat dipakai adalah asam klorida atau asam borat 4% dalam jumlah yang berlebihan. Agar kontak antara asam dan amonia lebih baik maka diusahakan ujung tabung destilasi tercelup sedalam mungkin dalam asam. Untuk mengetahui asam dalam keadaan berlebih maka diberi indikator misalnya campuran indikator brom kresol hijau dan metil merah dan indikator fenofltalein. Destilasi diakhiri bila sudah semua amonia terdestilasi sempurna dengan ditandai destilat tidak bereaksi basa.



Sumber: (brooklyn.cuny.edu)

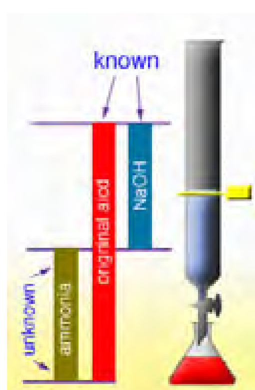
Tahap Titrasi

Apabila penampung destilat digunakan asam klorida maka sisa asam klorida yang tidak bereaksi dengan amonia dititrasi dengan NaOH standar (0,1 N). Akhir titrasi ditandai dengan tepat perubahan warna larutan menjadi merah muda dan tidak hilang selama 30 detik bila menggunakan indikator fenolftalein. Selisih jumlah titrasi blanko dan sampel merupakan jumlah ekivalen nitrogen.

$$N\% = \frac{\text{ml NaOH (blanko} - \text{sampel)}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} + \text{N. NaOH} \times 14{,}008$$

Apabila penampung destilasi digunakan asam borat maka banyaknya asam borat yang bereaksi dengan ammonia dapat diketahui dengan titrasi menggunakan asam khlorida 0,1 N dengan indikator campuran (Brom kresol hijau dan metil merah). Akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari biru menjadi merah muda. Selisih jumlah titrasi sampel dan blanko merupakan jumlah ekivalen nitrogen.

$$N\% = \frac{\text{ml NaOH (blanko} - \text{sampel)}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} + \text{N. NaOH} \times 14{,}008 \times 100\%$$



Sumber: (brooklyn.cuny.edu)

Setelah diperoleh %N, selanjutnya dihitung kadar proteinnya dengan mengalikan suatu faktor. Besarnya faktor perkalian N menjadi protein ini tergantung pada presentase N yang menyusun protein dalam suatu bahan. Besarnya faktor perkalian untuk beberapa bahan disajikan pada tabel berikut :

Tabel 11. Faktor konversi N beberapa bahan pangan

Bahan	Faktor konversi
Bir, sirup, biji-bijian, ragi	6,25
Buah-buahan, teh, anggur, malt	6,25
Makanan ternak	6,25
Beras	5,95
Roti, gandum, makaroni, mie	5,70
Kacang tanah	5,46
Kedelai	5,75
Kenari	5,18
Susu	6,38
Gelatin	5,55

Penetapan Protein Kasar

Metode Kjeldahl

Analisis protein metode Kjeldhal didasarkan pada oksidasi bahan - bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia. Kemudian amonia bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Larutan dibuat menjadi basa dan amonia diuapkan untuk kemudian diserap dalam larutan asam borat. Nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan titrasi menggunakan HCl 0.02 N.

Tabel 12. Faktor konversi kadar protein bermacam bahan pangan :

Bahan	Faktor Koreksi
Bir, sirop, biji-bijian, ragi, pakan ternak, buahan teh manisan anggur, tepung jagung	6.25
Beras	5.95
Roti, gandum, makaroni, bakmi	5.70
Kacang tanah	5.46
Kedele	5.71
Kenari	5.18
Susu dan produk susu	6.38

Metode Biuret

Penentuan kadar protein dengan metode Biuret merupakan salah satu cara terbaik. Dalam larutan, basa Cu2+ membentuk kompleks dengan ikatan peptida (-CO-NH-) sehingga menghasilkan warna ungu dengan absorbans maksimum pada 540 nm. Absorban berbanding lurus dengan konsentrasi protein dan tidak tergantung dari jenis protein karena seluruh protein memiliki jumlah ikatan peptida yang sama per satuan berat. Hanya sedikit senyawa lain yangmengganggu reaksi misalnya urea (mengandung gugus –CONH-) dan gula pereduksi yang akan bereaksi dengan ion Cu2+.

Pereaksi yang digunakan dalam metode Biuret adalah :

Pereaksi Biuret

Pereaksi Biuret dibuat dengan melarutkan 3 g CuCO4.5H2O dan 9 g Na-K-Tartrat dalam500 ml NaOH 0.2 NTambahkan 5 g KI, kemudian encerkan sampai 1000 mldengan menggunakan NaOH0.2N

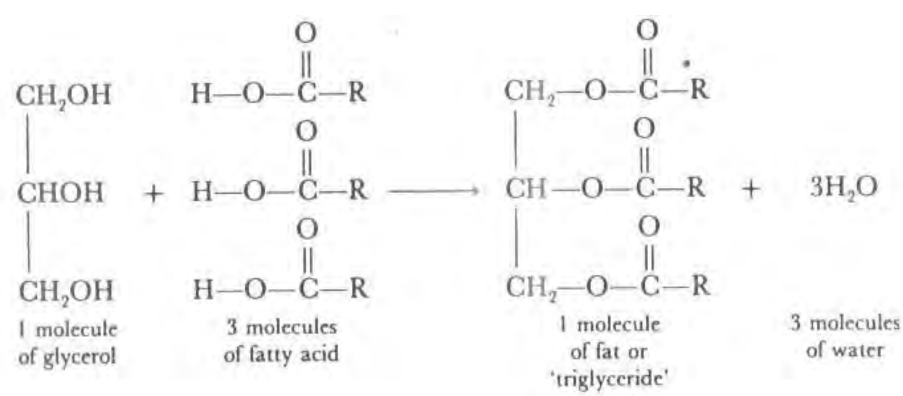
Larutan protein standar

Buat larutan bovine serum albumin dalam air dengan konsentrasi 5 mg/ml. Ukur kadar air serum albumin,nyatakan konsentrasi dengan dasar berat kering (agar lebih tepat).

3) Pengujian Kandungan Lemak

Lemak dan minyak merupakan salah satu kelompok yang termasuk golongan lipida. Salah satu sifat yang khas dan mencirikan golongan lipida adalah daya larutnya dalam pelarut organik (misalnya ether, benzene, khloroform) atau sebaliknya ketidak-larutannya dalam pelarut air.

Lemak dan minyak dikenal juga sebagai lipid, seperti halnya karbohidrat lipid juga mengandung elemen-elemen karbon, hidrogen, dan oksigen. Lipid merupakan ester dari gliserol dan asam lemak. Gliserol merupakan trihidrat alkohol mempunyai 3 grup –OH. Formula umum dari asam lemak (asam alkanoat) adalah R.COOH dimana R merupakan representasi dari rantai hidrokarbon. Tiap-tiap grup –OH dari gliserol bereaksi dengan COOH dari asam lemak membentuk molekul lemak atau minyak.



Lemak dan minyak merupakan campuran trigliserida. Satu trigliserida terdiri dari satu molekul gliserol bergabung dengan 3 molekul asam lemak, seperti digambarkan pada persamaan di atas. Digliserida terdiri dari gliserol berkombinasi dengan 2 molekul asam lemak, dan di dalam monogliserida hanya satu molekul asam lemak. Digliserida dan monogliserida digunakan sebagai emulsifier.

Kelompok lipida dapat dibedakan berdasarkan polaritasnya atau berdasarkan struktur kimia tertentu.

a) Kelompok trigliserida (lemak, minyak, asam lemak)
b) Kelompok turunan asam lemak (lilin, aldehid asam lemak dll.)
c) Fosfolipida dan serebrosida (termasuk glikolipida)
d) Sterol-sterol dan steroida
e) Karotenoida
f) Kelompok lipida lain.

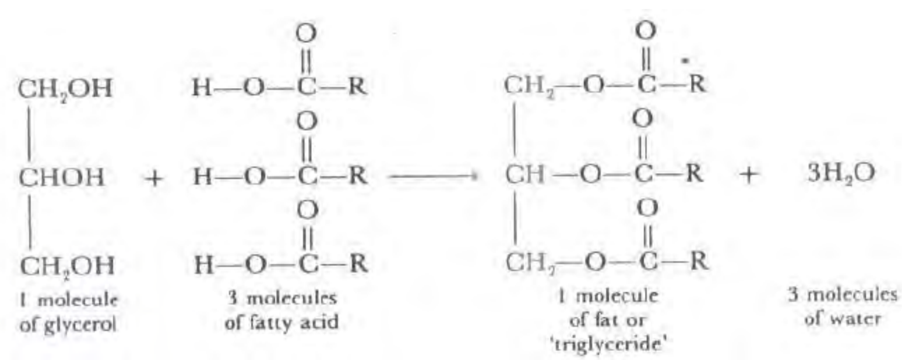
Trigliserida merupakan kelompok lipida paling banyak dalam jaringan hewan dan tumbuhan. Trigliserida dalam tubuh manusia bervariasi jumlahnya tergantung dari tingkat kegemukan seseorang dan dapat mencapai beberapa kilogram. Fosfolipida, glikolipida, sterol dan steroida terdapat dalam jaringan hewan dan tumbuhan dalam jumlah yang lebih sedikit daripada trigliserida. Dalam tubuh manusia, kelompok ini hanya merupakan beberapa persen saja dari bahan lipida seluruhnya.

Karotenoida dalam tubuh manusia lebih sedikit lagi jumlahnya, biasanya dalam seluruh tubuh manusia hanya terdapat kurang dari 1 gram. Dalam jaringan tanaman, karotenoida terdapat dalam jumlah lebih banyak. Secara definitif, lipida diartikan sebagi semua bahan

organik yang dapat larut dalam pelarut organik yang mempunyai kecenderungan nonpolar.

Lemak dan Minyak

Lemak dan minyak atau secara kimiawi adalah trigliserida merupakan bagian terbesar dari kelompok lipida. Trigliserida ini merupakan senyawa hasil kondensasi satu molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak.



Gambar 8.10. Reaksi kondensasi pada lemak

Secara umum lemak diartikan sebagai trigliserida yang dalam kondisi suhu ruang berada dalam keadaan padat. Sedangkan minyak adalah trigliserida yang dalam suhu ruang berbentuk cair. Secara lebih pasti tidak ada batasan yang jelas untuk membedakan minyak dan lemak.

Analisa lemak dan minyak lebih mudah dianalisa karena molekul lemak dan minyak relatif lebih kecil dan kurang kompleks dibandingkan dengan molekul karbohidrat dan protein. Analisa lemak dan minyak umum yang dilakukan pada bahan makanan digolongkan dalam 3 kelompok tujuan :

1. Penentuan kadar lemak atau minyak yang terdapat dalam bahan makanan atau bahan pertanian

2. Penentuan kualitas minyak murni sebagai bahan makanan yang berkaitan dengan proses ekstraksinya atau ada tidaknya pemurnian lanjutan seperti penjernihan (*refining*), penghilangan bau (*deodorizing*), penghilangan warna (*bleaching*) dan lain-lain
3. Penentuan sifat fisis atau kimia khas yang mencirikan sifat minyak tertentu.

Ekstraksi merupakan salah satu cara untuk menentukan kadar lemak dalam suatu bahan. Sebagai senyawa hidrokarbon, lemak dan minyak pada umumnya tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik.

Pelarut yang umum digunakan untuk ekstraksi lemak adalah heksan, ether atau khloroform. Pemilihan pelarut yang paling sesuai adalah dengan menentukan derajat polaritasnya. Pada dasarnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Karena polaritas lemak berbeda-beda maka tidak ada bahan pelarut umum (universal) untuk semua macam lemak. Contoh dibawah ini menunjukkan beberapa jenis bahan pelarut yang sesuai untuk ekstraksi lemak tertentu :

1. Senyawa trigliserida yang bersifat nonpolar akan mudah diektraksi dengan pelarut-pelarut nonpolar, misalnya heksan atau petroleum ether.
2. Glikolipida yang polar akan mudah diekstraksi dengan alkohol yang polar.
3. Lesitin akan mudah larut dalam pelarut yang sedikit asam misalnya alkohol.
4. Fosfolipida yang bersifat polar dan asam akan mudah larut dalam khloroform yang sedikit polar dan basa. Senyawa ini tidak larut dalam alkohol.

Petroleum ether atau heksan adalah bahan pelarut lemak nonpolar yang paling banyak digunakan karena harganya relatif murah, kurang

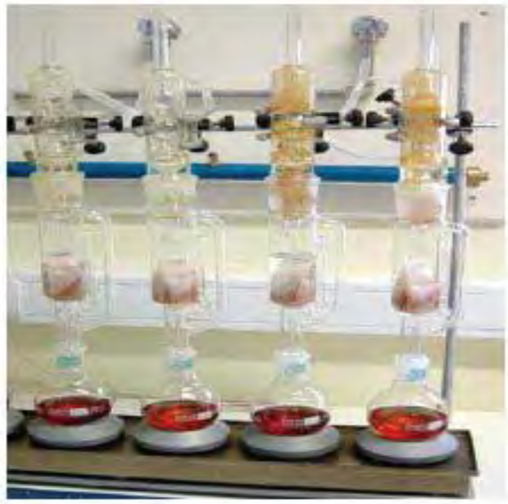
berbahaya terhadap risiko kebakaran dan ledakan, serta lebih selektif untuk lemak nonpolar. Sebagian lemak terdapat dalam keadaan terikat (secara tidak erat) dengan protein atau bahan-bahan lain, sehingga ekstraksi dengan pelarut tidak akan dapat melarutkannya. Salah satu tingkat persiapan penentuan jumlah lemak secara kuantitatif adalah pemecahan ikatan lipida dengan protein tersebut misalnya dengan asam.

Penentuan kadar lemak dengan pelarut, selain lemak juga terikut fosfolipida, sterol, asam lemak bebas, karotenoid dan pigmen yang lain. Karena itu hasil analisanya disebut lemak kasar (*crude fat*).

Penetapan Lemak Kasar dengan Metode Ekstraksi Soxhlet

Untuk penentuan lemak dari bahan kering, bahan dibungkus atau ditempatkan dalam thimble lalu dikeringkan dalam oven untuk menghilangkan airnya. Pemanasan dilakukan secepatnya dan dihindari suhu yang terlalu tinggi. Air yang terlalu tinggi akan menyebabkan pelarut sukar masuk ke dalam jaringan/sel dan pelarut menjadi jenuh dengan air sehingga ekstraksi lemak kurang efisien.

Ekstraksi lemak dari bahan kering dapat dilakukan secara terputus-putus atau berkesinambungan. Ekstraksi secara terputus dilakukan dengan alat soxhlet atau alat ekstraksi ASTM (*American Society testing Material*). Sedangkan secara berkesinambungan dengan alat Goldfisch atau ASTM yang telah dimodifikasi.



Gambar 9. Tabung ekstraksi Soxhlet

4) Pengujian Kadar Air

Air mrupakan komponen penting dalam bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi "accptability", kenampakan, kesegaran, tekstur, serta cita rasa pangan. Dibeberapa bahan pangan air ada dalam jumlah relatif besar, misalnya didalam beberapa buah-buahan dan sayuran mencapai sekitar 90% susu segar sekitar 87%, dan daging sapi sekitar 66%. Pada produk pangan yang kering seperti dendeng, kerupuk dan susu bubuk, adanya air perlu mendapat perhatian secara seksama. Kenaikan sedikit kandungan air pada bahan kering tersebut dapat mengakibatkan kerusakan baik dalam reaksi kimia maupun pertumbuhan mikroba pembusuk.

Air Dalam Bahan Pangan

Air dalam bahan pangan ada dalam tiga bentuk, yaitu:

1. Air bebas

   Air bebas ada diruangan antar sel, intergranular, pori-pori bahan, atau bahkan bahkan pada permukaan bahan. Air bebas sering disebut juga sebagai aktivitas air atau "water activity" yang diberi notasi Aw. Disebut aktivitas air, karena air bebas mampu membantu pertumbuhan mikroba dan aktivitas reaksi-reaksi kimia pada bahan pangan. Didalam air bebas terlarut beberapa nutrien yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang. Adanya nutrien terlarut juga memungkinkan beberapa reaksi kimia dapat berlangsung. Oleh sebab itu, bahan yang mempunyai kandungan air atau Aw tinggi pada umumnya cepat mengalami kerusakan, baik pertumbuhan mikroba pembusuk maupun akibat terjadinya reaksi kimia tertentu, seperti oksidasi atau reaksi enzimatik. Air bebas sangat mudh untuk dibekukan maupun diuapkan.

2. Air terikat lemah atau air teradsorbsi

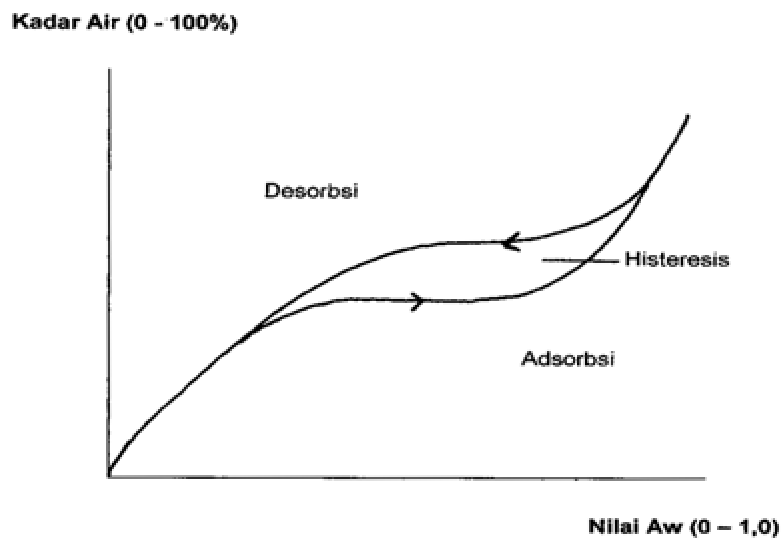
   Air terikat lemah atau air teradsorbsi terserap pada permukaan koloid makromolekul (protein, pati, dll) bahan. Air teradsorbsi juga terdispersi diantara koloid tersebut dan merupakan pelarut zat-zat yang ada dalam sel. Ikatan air dan koloid merupakan ikatan hidrogen. Air teradsorbsi relatif bebas bergerak dan relatif mudah dibekukan ataupun diuapkan.

3. Air terikat kuat

   Air terikat kuat sering juga disebut air hidrat, karena air tersebut membentuk hidrat dengan beberapa molekul lain dengan ikatan

bersifat ionik. Air terikat kuat jumlahnya sangat kecil dan angat sulit diuapkan dan dibekukan.

Pada pengukuran kadar air bahan pangan, air yang terukur adalah air bebas dan air teradsobsi. Jadi kadar air suatu bahan pangan merupakan gabungna dari air bebas dan air teradsorbsi dalam bahan tersebut. Hubungan kadar air bebas atau aktivitas air (Aw) ditunjukan dengan kecendrungan bahwa makin tinggi kadar air makin tinggi pula nilai Aw. Akan tetapi, hubungan tersebut tidak linier melainkan berbentukan kurva sigmoid. Kadar air dinyatakan dalam persen (%) dalam skala 0-100, sedangkan nilai Aw dinyatakan dalam angka desimal pada kisaran skala 1-1,0. Kurva hubungan antara kadar air dan Aw bahan disebut juga sebagai kurva Isoterm Sorbsi Lembab (ISL). Kuarva ISL dapat dilihat pada ilustrasi 3; dan contoh kadar air beberapa jenis bahan pangan dapat dilihat pada tabel di bawah ini.



Ilustrasi 3. Kurva ISL Bahan Pangan.

Tabel 4. Kadar Air Beberapa Jenis Bahan Pangan.

Jenis Bahan Pangan	Kadar Air (% WB)
Daging Sapi	66
Daging Ayam	56
Daging Kambing	70
Dendeng Sapi	25
Telur Ayam	74
Telur itik	71
Susu (sapi)	88
Keju	34
Susu bubuk	3-4

WB = "Wet Basis"/ Berdasarkan Bobot Basah

Metode Pengujian Kadar Air

Ada beberapa metode untuk analisis kadar air, antara lain yaitu: metode pengeringan dan metode destilasi.

1. **Metode Pengeringan/oven (Thermogravimetri)**

   Metode pengeringan dengan oven didasakan atas prinsip penghitungn selisih bobot bahan (sampel) sebelum dan sesudah

pengeringan. Selisih bobot tersebut merupakan air yang teruapkan dan dihitung sebagai kadar air bahan.

a. Metode Oven

Metode ini dapat digunakan untuk semua produk pangan, kecuali produk pangan yang mengandung komponen senyawa "volatil" (mudah menguap) atau produk yang terdekomposis/rusak pada pemanasan 100^{o}C. Prinsip metode ini adalah mengeringkan sampel dalam oven 100-105^{o}C sampai bobot konstan dan selisih bobot awal dengan bobot akhir dihitung sebagai kadar air.

b. Metode Oven-Vakum

Metode ini digunakan untuk produk yang mengandung komponen yang dapat terdekomposisi pada suhu 100^{o}C, atau relatif banyak mengandung senyawa "volatil". Prinsip metode oven-vakum adalah mengeringkan produk yang mudah trdekomposisi pada suhu 100^{o}C didalam suatu tempat yang dapat dikurangi tekanan udaranya atau "vakum" kan. Dengan demikian proses pengeringan dapat berlangsung pada suhu tekanan rendah. Prosedur dan perhitungan kadar air metode oven-vakum adalah sama dengan metode oven yang sudah dijelaskan di atas. Namun penggunaan oven-vakum relatif sedikit mahal jika dibandingkan dengan metode oven biasa.

2. Metode Destilasi (Thermovolumetri)

Metode distilasi digunakan untuk bahan yang banyak mengandung lemak dan komponen mudah menguap disamping air. Jadi metode ini menggunakan sampel dengan sifat yang sama dengan sampel yang digunakan pada metode oven-vakum. Prinsip pengukuran kadar air dengan metode destilasi adalah menguapkan air bahan

pangan dengan cara destilasi yang menggunakan pelarut "immicible", kemudian air ditampung dalam tabung yang diketahui volumenya. Pelarut yang digunakan mempunyai titik didih lebih besar dari pada air, tetapi mempunyai Berat Jenis (BJ) lebih kecil dari air. Contohnya senyawa yang dijadikan untuk pelarut yaitu: Toluen, Xylen, dan benzen.

Metode destilasi mempunyai keuntungan, antara lain:

a) Dapat menentukan kadar air bahan pangan yang memiliki kandungan air relatif kecil.
b) Penentuan kadar air memerlukan waktu yang relatif singkat, yaitu sekitar 1 jam.
c) Terjadinya oksidasi senyawa lipid dan dekomposisi senyawa gula dapat dihindari, sehingga penentuan kadar air cukup akurat.

5) Pengujian Kadar Abu

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembaakaran suatu bahan.kadar abu suatu bahan erat sekali kaitannya dengan mineral yang terdapat pada bahan tersebut. Berbagai mineral yang terdapat pada bahan pangan ada didalam abu pasaat bahan pangan tersebut dibakar.

Prinsip penentuan kadar abu didalam bahan pangan adalah menimbang berat sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu sekitar 550^{o}C. Penentuan kadar abu dapat dilakukan secara langsung dengan cara membakar bahan pangan pada suhu tinggi (500-600^{o}C) selama ± 2-8 jam dan kemudian menimbang sisa pembakaran yang tertinggal sebagai abu. Jumlah sampel pada analisis kadar abu adalah sekitar 2-5 g untuk bahan yang banyak mengandung mineral (misalnya: ikan, daging susu, biji-bijian), atau sekitar 10 g untuk bahan seperti "jelly", "jam",

sirup dan buah kering, ataulebih besar lagi (25-50 g) untuk bahan yang sedikit mengandung mineral seperti buah segar, jus dan anggur.

Penentuan kadar abu juga dapat dilakukan secara tidak langsung, yaitu dengan cara melarutkan sampel kedalam cairan yang ditambahkan oksidator. Setelah itu baru dilakukan pembakaran sampel. Cara pengabuan ini disebut pengabuan basah dan keuntungannya adalah suhu pembakaran tidak terlalu tinggi.

3. Tugas

Lakukan kegiatan praktikum analisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara kimiawi di laboratorium dibawah pengawasan guru pembimbing/ pengampu.

Hal-hal penting yang harus anda perhatikan selama melakukan praktikum adalah sebagai berikut:

1. Gunakan lembar kerja yang telah ditetapkan oleh guru pembimbing/pengampu, diantara lembar kerja yang terdapat pada pembelajaran ini
2. Mematuhi semua instuksi untuk keselamatan kerja
3. Menyiapkan alat untuk praktikum
4. Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum
5. Melaksanakan praktikum sesuai dengan langkah kerja/ prosedur pada lembar kerja
6. Menanyakan hal-hal yang belum dipahami kepada guru pembimbing/pengampu
7. Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung
8. Melakukan diskusi dengan anggota klompok kerja dan pencatatan data hasil pengamatan/diskusi
9. Menghitung/mengolah data hasil pengamatan
10. Membuat laporan hasil praktikum
11. Membersihkan lingkungan laboratorium setelah melakukan praktikum
12. Mengumpulkan laporan kelompok hasil praktikum

Lembar kerja 1.

Acara : Menguji kandungan karbohidrat bahan hasil pertanian dan perikanan

Tujuan umum : Siswa mampu melakukan pengujian kandungan kelompok karbohidrat (poli/disakharida dan monosakharida) secara kualitatif

Tujuan khusus:

Setelah melakukan kegiatan praktikum, siswa mampu melakukan:

1. Pengujian kandungan karbohidrat dengan uji molisch
2. Pengujian kandungan karbohidrat dengan uji benedict
3. Pengujian kandungan karbohidrat dengan uji Barfoed
4. Pengujian kandungan karbohidrat dengan uji Seliwanoff
5. Pengujian kandungan karbohidrat dengan uji Fenilhidrazin

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Tugas:

1 Pahami uraian materi karbohidrat yang berhubungan dengan:
   a. Uji molisch
   b. Uji benedict
   c. Uji barfoed
   d. Uji seliwanoff
   e. Uji fenilhidrazin

2. Tanyakan kepada guru pembimbing/pengampu dari kelima jenis uji yang belum dipahami

3. Lakukan pengujian dengan cara mereaksikan antara sampel yang telah disiapkan dengan pelarut/larutan tertentu pada setiap jenis uji kualitatif
4. Amati perubahan yang terjadi pada setiap hasil reaksi dan tunjukkan pada guru pembimbing/pengampu
5. Catat dan simpulkan hasil pengamatan

Tabel Pengamatan pengujian kandungan karbohidrat secara kualitatif

No	Nama Bahan	Jenis Uji	Hasil Analisis/ pengujian	Cara Analisis/pengujian
1				
2				
3				
dst				

Lembar kerja 2.

Acara : Menguji kandungan protein kasar bahan hasil pertanian dan perikanan

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kandungan protein kasar **(metode Kjeldhal)**

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Pereaksi yang digunakan dalam metode Kjeldhal adalah :

1. Asam sulfat pekat
2. Air raksa oksida
3. Kalium sulfat
4. Larutan natrium hidroksida natrium tiosulfat (larutkan 60 g NaOH dan 5 g NaS2O3.5H2O dalam air dan encerkan sampai 100 ml)
5. Larutan asam borat jenuh
6. Larutan asam khlorida 0.02N.

Peralatan yang digunakan :

1. Pemanas Kjeldahl lengkap yang dihubungkan dengan pengisap uap melalui aspirator.
2. Labu Kjeldahl berukuran 30 ml atau 50 ml.
3. Alat distilasi lengkap dengan Erlenmeyer berpenumpang 125 ml
4. Buret 25 ml / 50 ml

Cara Kerja

1. Timbang sejumlah kecil sampel (kira-kira akan membutuhkan 3-10 ml HCl 0.01 N atau 0.02 N), pindahkan kedalam labu Kjeldahl 30 ml

2. Tambahkan 1.9 ± 0.1 gK_2SO_4, 40 ± 10 mg HgO, dan2 ± 0.1 ml H_2SO_4. Jika sampellebih dari 15 mg ± 0.1 g. Bilasampel lebih dari 15 mg,tambahkan 0.1 ml H_2SO_4untuk setiap 10 mg bahanorganik di atas 15 mg.
3. Tambahkan beberapa butirbatu didih. Didihkan sampelselama 1 – 1.5 jam sampaicairan menjadi jernih.
4. Dinginkan, tambahkan sejumlahkecil air secara perlahanlahan(hati-hati tabung menjadipanas), kemudian dinginkan.
5. Pindahkan isi labu kedalamalat destilasi. Cuci dan bilaslabu 5-6 kali dengan 1-2 mlair, pindahkan air cucian tersebutke dalam alat distilasi.
6. Letakkan Erlenmeyer 125 mlyang berisi 5 ml larutanH_2BO_3 dan 2-4 tetes indikator(campuran 2 bagian metilmerah 0.2% dalam alkoholdan 1 bagian metilen blue0.2% dalam alkohol) di abwahkondensor. Ujung tabungkondensor harus terendam dibawah larutan H_3BO_3.
7. Tambahkan 8-10 ml larutanNaOH-$Na_2S_2O_3$, kemudian lakukandestilasi sampai tertampungkira-kira 15 mldestilat dalam Erlenmeyer.
8. Bilas tabung kondensor denganair, dan tampung bilasannyadalam Erlenmeyeryang sama.
9. Encerkan isi Erlenmeyersampai kira-kira 50 ml kemudiantitrasi dengan HCl 0.02Nsampai terjadi perubahanwarna menjadi abu-abu. Lakukanjuga penetapan Blanko.

Perhitungan :

Perhitungan

$$\% N = \frac{(a)(b)(c)}{d}$$

dimana :

a = ml HCl
b = ml blanko
c = normalitas
d = mg sampel
% protein = %N x faktor konsversi

Lembar kerja 3.

Acara : Menguji kandungan protein kasar bahan hasil pertanian dan perikanan

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kandungan protein kasar **(metode Biuret)**

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Pereaksi yang digunakan dalam metode Biuret adalah :

1. Pereaksi Biuret (cara pembuatan dapat dilihat pada uraian materi)
2. Larutan protein standar (cara pembuatan dapat dilihat pada uraian materi)

Peralatan yang digunakan :

1. Spektrofotometer
2. Sentrifus
3. Waring Blender

Cara kerja

1. Pembuatan Kurva Standar
2. Masukkan ke dalam tabungreaksi 0 (blanko), 0.1, 0.2,,0.4, 0.6, 0.8, dan 1 ml proteinstandar. Tambahkan air sampaivolume total masingmasing4 ml.
3. Tambahkan 6 ml pereaksiBiuret ke dalam masingmasingtabung reaksi, campurhingga rata.
4. Simpan tabung reaksi padasuhu 37 oC selama 10 menitatau pada suhu kamar selama30 menit sampai pembentukanwarna ungu sempurna.
5. Ukur absorbansinya pada 520nm.

Lembar kerja 4.

Acara : Menguji kandungan Lemak kasar bahan hasil pertanian dan perikanan

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kandungan Lemak kasar (metode ekstraksi Soxhlet)

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Bahan/Pereaksi yang digunakan :

1. sampel
2. Pasir
3. Petroleum eter

Peralatan yang digunakan :

1. Tabung ekstraksi Soxhlet
2. *Thimble*
3. Botol timbang
4. Penangas air
5. Oven
6. Timbangan

Cara Kerja

1. Timbang 2 g sampel yang telah dihaluskan (sebaiknya yang kering dan lewat 40 mesh), campurkan dengan pasir yang telah dipijarkan sebanyak 8 g dan masukkan ke dalam tabung ekstraksi Soxhlet dalam Thimble.
2. Alirkan air pendingin melalui kondensor
3. Pasang tabung ekstraksi pada alat distilasi Soxhlet dengan pelarut petroleum eter secukupnya selama 4 jam. Setelah residu dalam tabung ekstraksi diaduk, ekstraksi dilanjutkan lagi selama 2 jam dengan pelarut yang sama.
4. Petroleum yang mengandung ekstrak lemak dan minyak dipindahkan ke dalam botol timbang yang bersih dan diketahui bobotnya, kemudian uapkan dengan penangas air sampai pekat. Teruskan pengeringan dalam oven 100oC sampai bobotnya konstan. Berat residu dalam botoltimbang dinyatakan sebagai berat lemak dan minyak.

Lembar kerja 5.

Acara : Menguji kadar air bahan hasil pertanian dan perikanan **(metode Oven)**

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kadar air **(metode Oven)**

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Bahan dan Alat-alat yang digunakan:

Sampel bahan pangan

Alat-alat yang digunakan:

Timbangan analitis

Oven

Eksikator

Botol sampel

Cara kerja:

1. Haluskan bahan pangan (sampel) yang akan diukur kadar airnya, bahan/sampel ditimbang terlebih dahulu (± 1-5 g). Kemudian ambil dan masukkan ke dalam botol.
2. Keringkan dalam oven pada suhu 100-105^{o}C selama 3-6 jam, tergantung bahan pangannya. Setelah itu dinginkan dalam eksikator dan timbang. Panaskan lagi dalam oven selama 30 menit, dinginkan kembali dalam eksikator dan timbang lagi. Tahap ini diulang beberapa kali hingga tercapai berat konstan (selisih antara dua penimbangan kurang dari 0.2 mg)
3. Selisih antara bobot awal dan akhir merupakan bobot kadar air.

Perhitungan kadar air

Selanjutnya kadar air dapat dihitung, baik berdasarkan bobot kering atau "dry basis" (DB) ataupun berdasarkan bobot basah atau "wet basis" (WB).

$$\text{Kadar air (\% DB)} = \frac{W3}{W2} \text{ x } 100$$

$$\text{Kadar air (\%WB)} = \frac{W3}{W1} \text{ x } 100$$

$$\text{Total Bahan Padat (\%)} = \frac{W2}{W1} \text{ x } 100$$

Keterangan:

W1 = Bobot sampel awal (g)

W2 = Bobot sampel kering (g)

W3 = Kehilangan Berat/Selisih bobot (g)

Lembar kerja 6.

Acara : Menguji Kadar Air bahan hasil pertanian dan perikanan (**Metode Oven-vakum)**

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kadar Abu (**Metode Oven-vakum)**

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Bahan dan Alat yang digunakan:

Sampel bahan pangan

Alat-alat yang digunakan:

- Timbangan analitis
- Botol timbang
- Oven vakum
- Eksikator

Cara Kerja:

1. Timbang contoh bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g, setelah itu masukan kedalam botol yang telah diketahui bobotnya.
2. Keringkan dalam oven-vakum selama 3-5 jam dengan suhu 95-100^{o}C. Penamansan juga dapat dilakukan 20-25^{o}C di atas titik didih air pada tekanan 25mm.
3. Dinginkan dalam eksikator dan timbang kembali.
4. Perlakuan ini diulangi hingga selisih dua penimbangan tidak lebih dari 0.05 persen.

Lembar kerja 7.

Acara : Menguji Kadar Air bahan hasil pertanian dan perikanan (**Metode Destilasi)**

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kadar Abu (**Metode Destilasi)**

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Bahan/pereaksi yang digunakan:

1. Sampel bahan hasil pertanian dan perikanan
2. Toluen/xylen

Alat-alat yang digunakan:

1. Timbangan analitis
2. Erlenmeyer
3. Gelas ukur
4. Perangkat destilasi

Cara kerja:

1. Timbang bahan pangan yang telah dipotong kecil secukupnya (kira-kira mengandung 2-5 ml air).
2. Masukan ke dalam labu distilasi dan tambahkan 75-100 ml toluen atau silen (Xylen). Setelah itu pasang labu pada alat distilasi.
3. Atur besarnya pemanasan distilasi hingga kira-kira 4 tetes toluen jatuh dari kondensor setiap detiknya.
4. Lanjutkan proses distilasi sampai semua air menguap dan air di dalam penampungan tidak bertambah lagi (kira-kira 1 jam).
5. Baca volume air yang tertampung dan hitung % air dari berat contoh.

Lembar kerja 8.

Acara : Menguji kadar Abu bahan hasil pertanian dan perikanan

Tujuan : Siswa mampu melakukan pengujian kadar abu

Keselamatan Kerja :

1. Pakailah jas praktikum untuk melindungi baju dari kotoran
2. Pahami lembar kerja sebelum melakukan pekerjaan.
3. Pahami cara penggunaan alat sebelum menggunakannya.

Bahan dan alat yang digunakan:

Bahan:

Sampel bahan pangan

Alat-alat:

- Krus porselin
- Timbangan analitis
- Unit muffle

Langkah kerja pengujian kadar abu

1. Masukan bahan pangan (yang sudah ditimbang) yang akan dianalisis ke dalam krus porselin sebanyak 2-10 g.
2. Pijarkan dalam muffle sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan.
3. Pindahkan krus porselen bersamaabu ke dalam eksikator hingga dingin.
4. Timbang bobot abu.
5. Tentukan persen kadar abu berdasarkan berat kering bahan pangan.

Untuk menghitung kadar abu yang diperoleh dapat menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{Berat\ abu\ (g)}{Berat\ sampel\ (g)} \text{ x } 100$$

4. Refleksi

Petunjuk :

- Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
- Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
- Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?

   ....

   ....

   ....

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.

   ....

   ....

   ....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?

   ....

   ....

   ....

4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?

   ....

   ....

   ....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

....
....
....

5. Tes formatif

1. Jelaskan tujuan analisis pangan yang anda ketahui
2. Jelaskan prinsip dasar reaksi pengujian karbohidrat dengan:

   Uji molisch

   Uji benedict

   Uji barfoed

   Uji seliwanoff

   Uji fenilhidrazin
3. Jelaskan prinsip dasar reaksi pengujian kandungan protein bahan pangan pada tahapan:
   a. Destruksi
   b. Destilasi
   c. Titrasi
4. Jelaskan prinsip dasar reaksi pengujian lemak bahan pangan dengan metode ekstraksi soxlet
5. Jelaskan prisip penentuan kadar air dengan:
   a. Metode oven
   b. Metode oven vakum
   c. Metode destilasi
6. Jelaskan prinsip penentuan kadar abu dalam bahan pangan

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Skala penilaian sikap dibuat dengan rentang antara 1 s.d 4.

1 = BT (belum tampak) *jika* sama sekali tidak menunjukkan usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas

2 = MT (mulai tampak) *jika* menunjukkan sudah ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas tetapi masih sedikit dan belum ajeg/konsisten

3 = MB (mulai berkembang) *jika* menunjukkan ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas yang cukup sering dan mulai ajeg/konsisten

4 = MK (membudaya) *jika* menunjukkan adanya usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas secara terus-menerus dan ajeg/konsisten

No.	Sikap	Religius				Disiplin				Tanggug jawab				Peduli				Responsif				Teliti				Jujur				Santun			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Mengamati																																
2	Menanya																																
3	Mengeksplorasi																																
4	Mengasosiasikan																																
5	Mengkomunikasikan																																

2. Penilaian Pengetahuan

1. Jelaskan tujuan analisis pangan yang anda ketahui

2. Jelaskan prinsip dasar reaksi pengujian karbohidrat dengan:

    a. Uji molisch
    b. Uji benedict
    c. Uji barfoed
    d. Uji seliwanoff
    e. Uji fenilhidrazin

3. Jelaskan prinsip dasar reaksi pengujian kandungan protein bahan pangan pada tahapan:

    a. Destruksi
    b. Destilasi
    c. Titrasi

4. Jelaskan prinsip dasar reaksi pengujian lemak bahan pangan dengan metode ekstraksi soxlet

5. Jelaskan prisip penentuan kadar air dengan:

    a. Metode oven
    b. Metode oven vakum
    c. Metode destilasi

6. Jelaskan prinsip penentuan kadar abu dalam bahan pangan

3. Penilaian Keterampilan

NO	ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
		1	2	3
1.	Menyiapkan alat untuk praktikum			
2.	Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum			
5.	Melaksanakan langkah kerja sesuai prosedur			
6.	Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung			
7.	Melakukan pencatatan data			
8.	Menghitung/mengolah data hasil pengamatan			
9.	Membuat laporan hasil praktum			
10.	Membersihkan lingkungan praktikum			

Rubrik :

ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
	1	2	3
Menyiapkan alat untuk praktikum	Alat tidak disiapkan	Alat disiapkan tidak sesuai dengan diperlukan	Alat disiapkan sesuai dengan yang diperlukan
Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum	Bahan yang digunakan tidak lengkap	Bahan yang digunakan lengkap tapi ada yang tidak dibutuhkan	Bahan yang digunakan lengkap dan sesuai dengan yang dibutuhkan
Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung	Pengamtan tidak cermat	Pengamatan cermat, tetapi mengandung interpretasi	Pengamatan cermat dan bebas interpretasi
Melakukan pencatatan data pengamatan	Data pengamatan tidak dicatat	Data pengamatan dicatat tetapi ada kesalahan	Data pengamtan dicatat dengan lengkap
Menghitung/ mengolah data hasil pengamatan	Perhitungan data hasil pengamatan salah	Perhitungan data hasil pengamatan benar tetapi tidak sesuai dengan rumus	Perhitungan data hasil pengamatan benar dan lengkap sesuai rumus
Membuat laporan hasil praktikum	Laporan hasil praktikum tidak dibuat	Laporan hasil praktikum rapi dan tidak lengkap	Laporan hasil praktikum rapi dan lengkap
Membersihkan lingkungan tempat praktikum	Lingkungan tempat praktikum tidak dibersihkan	Lingkungan tempat praktikum dibersihkan dan tidak rapi	Lingkungan tempat praktikum dibersihkan dengan rapi.

Kegiatan Pembelajaran 3. Pengujian Hasil Pertanian dan Perikanan Secara Mikrobiologis

A. Deskripsi

Pengujian hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis merupakan salah satu kompetensi dasar kejuruan dari mata pelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan peserta didik SMK pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan. Kompetensi dasar ini merupakan dasar kejuruan pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan yang bertujuan untuk memantapkan pemahaman fakta, konsep, prinsip dan prosedur serta metakognitif mengenai pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis. Pelaksanaannya meliputi langkah-langkah pembelajaran mengamati, menanya, mengeksplorasi keterampilan proses dalam bentuk eksperimen, mengasosiasi, dan mengkomunikasikan hasil pengamatan dan percobaan, kesimpulan berdasarkan hasil pengamatan/analisis secara lisan, tertulis, atau media lainnya. Media yang digunakan meliputi alat dan bahan praktikum serta in focus. Penguasaan materi peserta didik dievaluasi melalui sikap, pengetahuan dan keterampilan.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari tentang pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis, peserta didik diharapkan mampu:

- Memahami klasifikasi dan karakteristik mikroorganisme pangan
- Melakukan sterilisasi peralatan dan media kultur mikroba
- Melakukan pembuatan media tumbuh mikroba
- Melakukan kerja laboratoriusecara aseptis

- Melakukan isolasi mikroba
- Melakukan pengamatan morfologi dan motilitas mikroba
- Melakukan perhitungan jumlah koloni/sel mikroba

2. Uraian Materi

a. Mikrobiologi Pangan

Mikrobiologi pangan adalah suatu ilmu yang mempelajari makhluk hidup yang sangat kecil yang hanya dapat dilihat dengan menggunakan lensa pembesar atau mikroskop. Makhluk yang sangat kecil tersebut disebut mikroorganisme atau mikroba, dan ilmu yang mempelajari tentang mikroba yang sering ditemukan pada pangan disebut mikrobiologi pangan. Yang dimaksud dengan pangan disini mencakup semua makanan, baik bahan baku pangan maupun yang sudah diolah.

Pertumbuhan mikroba pada pangan dapat menimbulkan berbagai perubahan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan. **Mikroba yang merugikan** misalnya yang menyebabkan kerusakan atau kebusukan pangan, dan yang sering menimbulkan penyakit atau keracunan pangan. Sedangkan **mikroba yang menguntungkan** adalah yang berperan dalam proses fermentasi pangan, misalnya dalam pembuatan tempe,oncom, kecap, tauco, tape dll. Oleh sebab itu dengan mengetahui sifat-sifat mikroba pada pangan kita dapat mengatur kondisi sedemikian rupa sehingga pertumbuhan mikroba yang merugikan dapat dicegah, sedangkan mikroba yang menguntungkan dirangsang pertumbuhannya.

Mikroba terdapat dimana-mana, misalnya di dalam air, tanah, udara, tanaman, hewan, dan manusia. Oleh karena itu mikroba dapat masuk ke dalam pangan melalui berbagai cara, misalnya melalui air yang digunakan untuk menyiram tanaman pangan atau mencuci bahan baku pangan, terutama bila air tersebut tercemar oleh kotoran hewan atau manusia.

Mikroba juga dapat masuk ke dalam pangan melalui tanah selama penanaman atau pemanenan sayuran, melalui debu dan udara, melalui hewan dan manusia, dan pencemaran selama tahap-tahap penanganan dan pengolahan pangan. Dengan mengetahui berbagai sumber pencemaran mikroba, kita dapat melakukan tindakan untuk mencegah masuknya mikroba pada pangan.

Pangan yang berasal dari tanaman membawa mikroba pada permukaannya dari sejak ditanam, ditambah dengan pencemaran dari sumber-sumber lainnya seperti air dan tanah. Air merupakan sumber pencemaran bakteri yang berasal dari kotoran hewan dan manusia, termasuk di antaranya bakteri-bakteri penyebab penyakit saluran pencemaan. Tanah merupakan sumber pencemaran bakteri-bakteri yang berasal dari tanah, terutama bakteri pembentuk spora yang sangat tahan terhadap keadaan kering. Pada pangan yang berasal dari hewan, mikroba mungkin berasal dari kulit dan bulu hewan tersebut dan dari saluran pencemaan, ditambah dengan pencemaran dari lingkungan di sekitarnya.

Pangan yang berasal dari tanaman dan hewan yang terkena penyakit dengan sendirinya juga membawa mikroba patogen yang menyebabkan penyakit tersebut. Tangan manusia merupakan sumber pencemaran bakteri yang berasal dari luka atau infeksi kulit, dan salah satu bakteri yang berasal dari tangan manusia, yaitu *Staphylococcus*, dapat menyebabkan keracunan pangan. Selain itu orang yang sedang menderita atau baru sembuh dari penyakit infeksi saluran pencemaan seperti tifus, kolera dan disenteri, juga merupakan pembawa bakteri penyebab penyakit tersebut sampai beberapa hari atau beberapa minggu setelah sembuh. Oleh karena itu orang tersebut dapat menjadi sumber pencemaran pangan jika ditugaskan menangani atau mengolah pangan.

Klasifikasi Mikroba Pangan

Organisme yang sering ditemukan pada pangan dibedakan atas empat golongan, yaitu:

1) Bakteri
2) Kapang
3) Kamir
4) Virus

1) **Bakteri**

Bakteri merupakan makhluk bersel tunggal yang berkembang biak dengan cara membelah diri dari satu sel menjadi dua sel. Pada kondisi yang sangat baik, kebanyakan sel bakteri dapat membelah dan berkembang biak dalam waktu kurang lebih 20 menit. Pada kecepatan yang tinggi ini satu sel bakteri dapat memperbanyak diri menjadi lebih dari 16 juta sel baru dalam waktu 8 jam.

Berdasarkan bentuk selnya, bakteri dapat dibedakan atas empat golongan yaitu:

a) Koki (bentuk bulat), mungkin terdapat dalam bentuk tunggal (terpisah), berpasangan (diplokoki), berempat (tetra koki atau tetrad), bergerombol (stapilokoki), dan membentuk rantai (streptokoki).
b) Basili (bentuk batang), mungkin terdapat dalam bentuk tunggal (terpisah) atau membentuk rantai.
c) Spirilium (bentuk spiral)
d) Vibrio (bentuk koma)

Banyak bakteri yang sebenarnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tetapi jika tumbuh dan berkembang biak pada pangan sampai mencapai jumlah yang sangat tinggi dapat mengakibatkan kerusakan makanan,

yaitu menimbulkan bau busuk, lendir, asam, perubahan warna, pembentukan gas, dan perubahan-perubahan lain yang tidak diinginkan. Bakteri semacam ini digolongkan ke dalam bakteri perusak pangan.

Bakteri perusak pangan sering tumbuh dan menyebabkan kerusakan pada bahan pangan yang mempunyai kandungan protein tinggi seperti ikan, susu, daging, telur dan sayuran. Bakteri yang menyebabkan gejala sakit atau keracunan disebut bakteri patogenik atau patogen. Gejala penyakit yang disebab¬kan oleh patogen timbul karena bakteri tersebut masuk ke dalam tubuh melalui pangan dan dapat berkembang biak di dalam saluran pencemaan dan menimbulkan gejala sakit perut, diare, muntah, mual, dan gejala lain. Patogen semacam ini misalnya yang tergolong bakteri koli (*Escherichia coli* patogenik), *Salmonella* dan *Shigella*.

Bakteri patogenik di dalam pangan juga dapat menyebabkan gejala lain yang disebut keracunan pangan. Gejala semacam ini disebabkan oleh tertelannya racun (toksin) yang diproduksi oleh bakteri selama tumbuh pada pangan. Gejala keracunan pangan oleh racun bakteri dapat berupa sakit perut, diare, mual, muntah, atau kelumpuhan. Bakteri yang tergolong ke dalam bakteri penyebab keracunan misalnya *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, dan *Bacillus cereus* yang memproduksi racun yang menyerang saluran pencemaan dan disebut enterotoksin, dan *Clostridium botulinum* yang memproduksi racun yang menyerang syaraf serta dapat menyebabkan kelumpuhan saluran tenggorokan dan disebut neurotoksin atau racun botulinum.

Selain pengaruh yang merugikan, beberapa bakteri juga mempunyai pengaruh yang menguntungkan dan yang digunakan atau berperan. dalam pembuatan berbagai makanan fermentasi, misalnya sayur asin,

ikan peda, terasi, keju, susu fermentasi (yogurt, yakult), sosis, dan lain-lain. Bakteri semacam ini memproduksi senyawa-senyawa yang menimbulkan cita-rasa yang khas untuk masing-masing produk, dan beberapa juga memproduksi asam yang dapat mengawetkan makanan.

Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai + 10 km diatas bumi), di dalam lumpur, dan di laut. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang, dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu, dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain itu dapat mengalami pleomorfi, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat pertumbuhan yang sesuai. Umumnya bakteri berukuran 0,5-10 μ.

2) Kapang

Kapang merupakan mikroba dalam kelompok Fungi yang berbentuk filamen, yaitu struktumya terdiri dari benang-benang halus yang disebut hifa. Kumpulan dari banyak hifa membentuk kumpulan massa yang disebut miselium dan lebih mudah dilihat oleh mata tanpa menggunakan mikroskop. Contoh miselium adalah serat putih seperti kapas yang tumbuh pada tempe.

Kapang juga mempunyai struktur yang disebut spora yang pada umumnya terletak pada ujung-ujung dari hifa, dan merupakan struktur yang sangat ringan dan mudah menyebar kemana-mana. Spora merupakan alat perkembangbiakan kapang, karena pada kondisi substrat dan lingkungan yang baik spora dapat bergerminasi dan

tumbuh menjadi struktur kapang yang lengkap. Dari satu struktur kapang dapat dihasilkan beratus-ratus spora yang mudah menyebar dan mencemari pangan, kemudian tumbuh menjadi bentuk kapang yang lengkap.

Jika dilihat dl bawah mikroskop, berbagai jenis kapang mempunyai struktur hifa dan spora yang berbeda-beda, dan karakteristik struktur tersebut digunakan untuk mengidentifikasi kapang. Spora kapang pada umumnya mempunyai warna tertentu tergantung dari jenis kapangnya. Oleh karena itu pertumbuhan kapang pada pangan mudah dilihat dengan mata, yaitu ditandai dengan perubahan warna yang menunjukkan adanya spora kapang dan sering disebut sebagai bulukan.

Selain dapat menyebabkan kerusakan pangan, beberapa kapang tertentu juga bermanfaat karena digunakan dalam proses fermentasi pangan. Tabel di bawah menyajikan berbagai jenis kapang yang sering tumbuh pada pangan, serta jenis pangan yang dirusak dan kegunaannya dalam proses fermentasi pangan.

Tabel 13. Jenis-jenis Kapang untuk Fermentasi dan Perusak Bahan Pangan

Jenis Kapang	Warna Spora	Pangan yang Dirusak	Makanan yang Difermentasi
Aspergillus	Hitam, hijau	Roti, serealia,kacang-kacangan	Kecap, tauco (A. orryzae)
Penicillium	Biru-hijau	Buah-buahan, sitrus, keju	Keju (P. roqueforti)
Rhizopus	Hitam di atas hifa berwarna putih	Roti, sayuran, buah-buahan	Tempe, oncom hitam (R. oryzae, R.oligosporus)
Neurospora (Monilia)	Oranye-merah	Nasi	Oncom merah

Beberapa kapang jika tumbuh pada pangan dapat memproduksi racun yang berbahaya yang disebut toksin (racun) kapang atau mikotoksin.

Spesies kapang yang memproduksi mikotoksin terutama adalah dari jenis *Aspergillus, Penicillium* dan *Fusarium*. Beberapa contoh mikotoksin yang sering ditemukan pada pangan misalnya aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergl1lus flavus* dan okratoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus ochraceus*.

3) Kamir

Kamir merupakan organisme bersel tunggal yang termasuk dalam kelompok Fungi. Jika tumbuh pada pangan, kamir dapat menyebabkan kerusakan, tetapi sebaliknya beberapa kamir juga digunakan dalam pembuatan makanan fermentasi. Kerusakan yang disebabkan oleh pertumbuhan kamir ditandai dengan terbentuknya bau asam dan bau alkohol, serta terbentuknya lapisan pada permukaan, misalnya kerusakan pada sari buah. Beberapa contoh kamir yang digunakan dalam proses fermentasi misalnya *Saccharomyces cerevisiae* untuk membuat roti, bir dan minuman anggur, dan (*Candida utilis*) untuk membuat protein mikroba yang disebut protein sel tunggal.

Pada umumnya kamir berkembang biak dengan cara membentuk tunas, meskipun beberapa jenis berkembang biak dengan cara membelah. Tunas yang timbul pada salah satu sisi sel kamir akan membesar dan jika ukurannya hampir menyamai induk selnya, maka tunas akan melepaskan diri menjadi sel yang baru. Pada beberapa spesies, tunas tidak melepaskan diri dari induknya sehingga semakin lama akan membentuk struktur yang terdiri dari kumpulan sel berbentuk cabang-cabang seperti pohon kaktus yang disebut pseudomiselium.

Perkembangbiakan sel kamir semacam ini disebut reproduksi aseksual. Selain dengan pertunasan, kamir juga berkembang biak dengan cara reproduksi seksual, yaitu dengan membentuk askospora. Dalam 1 sel

dapat terbentuk 4-6 askospora. Askospora yang telah masak dapat mengalami germinasi membentuk sel kamir, yang kemudian dapat berkembang biak secara aseksual dengan pertunasan.

4) Virus

Virus merupakan organisme dengan ukuran yang paling kecil dibandingkan dengan organisme lainnya. Virus merupakan organisme yang tidak dapat berkembang biak sendiri melainkan harus berada pada sel organisme lainnya, oleh karena itu digolongkan ke dalam parasit. Virus sering mencemari pangan tertentu seperti susu, pangan hasil laut, dan sayur-sayuran serta air. Salah satu virus yang sering mencemari pangan yaitu virus hepatitis A, serta virus polio yang sering mencemari susu sapi mentah.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pengujian secara mikrobiologis

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada pangan dibedakan atas dua kelompok, yaitu:

1. **Karasteristik pangan:**
   a. Aktivitas air (a_w)
   b. Nilai pH (keasaman)
   c. Kandungan gizi
   d. Senyawa antimikroba
2. **Kondisi lingkungan:**
   a. Suhu
   b. Oksigen
   c. Kelembaban
   d. Pengaruh tekanan osmotik terhadap pertumbuhan mikroorganisme
   e. Pengaruh sinar ultraviolet tehadap pertumbuhan mikroorganisme

b. Karakteristik Pangan

1) Aktivitas Air (a_w)

Aktivitas air (a_w) menunjukkan jumlah air bebas di dalam pangan yang dapat digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya. Nilai a_w pangan dapat dihitung dengan membagi tekanan uap air pangan dengan tekanan uap air murni. Jadi air murni mempunyai nilai a_w sama dengan 1. Nilai a_w secara praktis dapat diperoleh dengan cara membagi %RH pada saat pangan mengalami keseimbangan kadar air dibagi dengan 100. Sebagai contoh, jika suatu jenis pangan mempunyai a_w = 0,70, maka pangan tersebut mempunyai keseimbangan kadar air pada RE 70%, atau dengan perkataan lain pada RE 70% kadar air pangan tetap (yang menguap sama dengan yang terserap).

Mikroba mempunyai kebutuhan a_w minimal yang berbeda-beda untuk pertumbuhannya. Di bawah a_w minimal tersebut mikroba tidak dapat tumbuh atau berkembang biak. Oleh karena itu salah satu cara untuk mengawetkan pangan adalah dengan menurunkan a_w bahan tersebut. Beberapa cara pengawetan pangan yang menggunakan prinsip penurunan a_w bahan misalnya pengeringan dan penambahan bahan pengikat air seperti gula, garam, pati serta gliserol. Kebutuhan a_w untuk pertumbuhan mikroba umumnya adalah sebagai berikut:

a) Bakteri pada umumnya membutuhkan a_w sekitar 0,91 atau lebih untuk pertumbuhannya. Akan tetapi beberapa bakteri tertentu dapat tumbuh sampai a_w 0,75.
b) Kebanyakan kamir tumbuh pada a_w sekitar 0,88, dan beberapa dapat tumbuh pada a_w sampai 0,6.
c) Kebanyakan kapang tumbuh pada minimal 0,8.

Bahan makanan yang belum diolah seperti ikan, daging, telur dan susu mempunyai aw di atas 0,95, oleh karena itu mikroba yang dominan tumbuh dan menyebabkan kebusukan terutama adalah bakteri. Bahan pangan kering seperti biji-bijian dan kacang-kacangan kering, tepung, dan buah-buahan kering pada umumnya lebih awet karena nilai a_w-nya 0,60 – 0,85, yaitu cukup rendah untuk menghambat pertumbuhan kebanyakan mikroba. Pada bahan kering semacam ini mikroba perusak yang sering tumbuh terutama adalah kapang yang menyebabkan bulukan.

Seperti telah dijelaskan di atas, konsentrasi garam dan gula yang tinggi juga dapat mengikat air dan menurunkan a_w sehingga menghambat pertumbuhan mikroba. Makanan yang mengandung kadar garam dan atau gula yang tinggi seperti ikan asin, dendeng, madu, kecap manis, sirup, dan permen, biasanya mempunyai a_w di bawah 0,60 dan sangat tahan terhadap kerusakan oleh mikroba. Makanan semacam ini dapat disimpan pada suhu kamar dalam waktu yang lama tanpa mengalami kerusakan.

2) Nilai pH (keasaman)

Salah satu faktor pada pangan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba adalah pH, yaitu suatu nilai yang menunjukkan keasaman atau kebasaan. Dengan menggunakan pH-meter, nilai pH suatu bahan dapat diukur, umumnya berkisar antara 0 sampai 14. Nilai pH 7 menunjukkan bahan yang netral, nilai pH kurang dari 7 menunjukkan bahan bersifat lebih asam, sedangkan nilai pH lebih dari 7 menunjukkan bahan lebih bersifat basa. Kebanyakan mikroba tumbuh baik pada pH sekitar netral, dan pH 4,6 – 7,0 merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan

bakteri, sedangkan kapang dan kamir dapat tumbuh pada pH yang lebih rendah.

Pengelompokan pangan berdasarkan nilai pH-nya adalah sebagai berikut:

a) Pangan berasam rendah, adalah pangan yang mempunyai nilai pH 4,6 atau lebih, misalnya daging, ikan, susu, telur dan kebanyakan sayuran. Pangan semacam ini harus mendapatkan perlakuan pengawetan secara hati-hati karena mudah mengalami kerusakan oleh bakteri, termasuk bakteri patogen yang berbahaya.
b) Pangan asam, adalah pangan yang mempunyai pH 3,7 – 4 misalnya beberapa sayuran dan buah-buahan. 3. Pangan berasam tinggi, adalah pangan yang mempunyai pH di bawah 3,7, misalnya sayur asin, acar, dan lain-lain. Penurunan pH merupakan salah satu prinsip pengawetan pangan untuk mencegah pertumbuhan kebanyakan mikroba. Prinsip ini dapat dilakukan dengan cara menambahkan asam ke dalam makanan seperti dalam pembuatan acar atau asinan. Cara lain adalah fermentasi agar terbentuk asam oleh mikroba seperti dalam pembuatan sayur asin.

3) Kandungan Gizi

Seperti halnya mahluk hidup lainnya, mikroba membutuhkan zat gizi untuk pertumbuhannya. Bahan makanan pada umumnya mengandung berbagai zat gizi yang baik untuk pertumbuhan mikroba, yaitu protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral. Akan tetapi ada beberapa bahan makanan yang selain kandungan gizinya sangat baik juga kondisi lingkungannya mendukung, termasuk nilai aw dan pH-nya sangat baik untuk pertumbuhan mikroba. Contoh bahan makanan semacam ini adalah bahan yang mengandung protein tinggi, mempunyai pH sekitar

netral dan mempunyai aw di atas 0,95, misalnya daging, susu, telur, dan ikan. Karena kondisinya yang optimum untuk pertumbuhan mikroba, maka pada bahan-bahan pangan seperti itu bakteri akan tumbuh dengan cepat sehingga bahan pangan menjadi mudah rusak dan busuk.

4) Senyawa Antimikroba

Pertumbuhan mikroba pada pangan juga dipengaruhi oleh adanya bahan pengawet yang terkandung di dalamnya, yaitu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Bahan pengawet atau disebut juga senyawa antimikroba pada pangan dibedakan atas tiga golongan berdasarkan sumbernya, yaitu:

a) Senyawa antimikroba yang terdapat secara alami di dalam bahan pangan, misalnya asam pada buah-buahan, dan beberapa senyawa pada rempah-rempah.
b) Bahan pengawet yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam pangan atau pangan olahan, misalnya:

- Nitrit untuk menghambat bakteri pada kornet sapi dan sosis
- Garam natrium klorida untuk menghambat mikroba pada ikan asin
- Asam benzoat untuk menghambat kapang dan kamir pada selai dan sari buah
- Asam cuka (asam asetat) untuk menghambat mikroba pada asinan
- Asam propionat untuk menghambat kapang pada roti dan keju
- Sulfit untuk menghambat kapang dan kamir pada buah-buahan kering dan anggur.
- Senyawa antimikroba yang terbentuk oleh mikroba selama proses fermentasi pangan. Asam laktat, hidrogen peroksida

(H202), dan bakteriosin adalah senyawa antimikroba yang dibentuk oleh bakteri asam laktat selama pembuatan produk¬produk susu fermentasi seperti yogurt, yakult, susu asidofilus, dan lain-lain, serta dalam pembuatan pikel dari sayur-sayuran seperti sayur asin.

5) Kondisi lingkungan

a) Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Setiap mikroba mempunyai kisaran suhu dan suhu optimum tertentu untuk pertumbuhannya. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhan, mikroba dibedakan atas tiga kelompok sebagai berikut:

- Psikrofil, yaitu mikroba yang mempunyai kisaran suhu per¬tumbuhan 0 – 20°C.
- Mesofil, yaitu mikroba yang mempunyai kisaran suhu pertum¬buhan 20 – 45°C.
- Termofil, yaitu mikroba yang mempunyai suhu pertumbuhan¬nya di atas 45°C.

Kebanyakan mikroba perusak pangan merupakan mikroba mesofil, yaitu tumbuh baik pada suhu ruangan atau suhu kamar. Bakteri patogen umumnya mempunyai suhu optimum pertumbuhan sekitar 37^0C, yang juga adalah suhu tubuh manusia. Oleh karena itu suhu tubuh manusia merupakan suhu yang baik untuk pertumbuhan beberapa bakteri patogen.

Mikroba perusak dan patogen umumnya dapat tumbuh pada kisaran suhu $4\text{-}66^0$C. Oleh karena kisaran suhu tersebut merupakan suhu yang kritis untuk penyimpanan pangan, maka pangan tidak boleh disimpan terlalu lama pada kisaran suhu tersebut. Pangan harus

disimpan pada suhu di bawah 40C atau di atas 66^0C. Pada suhu di bawah 4°C, mikroba tidak akan mati tetapi kebanyakan mikroba akan terhambat pertumbuhannya, kecuali mikroba yang tergolong psikrofil. Pada suhu di atas 66°C, kebanyakan mikroba juga terhambat pertumbuhannya meskipun beberapa bakteri yang tergolong termofil mungkin tidak mati.

b) Oksigen

Mikroba mempunyai kebutuhan oksigen yang berbeda-beda untuk pertumbuhannya. Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, mikroba dibedakan atas 4 kelompok sebagai berikut:

1. Aerob, yaitu mikroba yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya.
2. Anaerob, yaitu mikroba yang tumbuh tanpa membutuhkan oksigen.
3. Anaerob fakultatif, yaitu mikroba yang dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen.
4. Mikroaerofil, yaitu mikroba yang membutuhkan oksigen pada konsentrasi yang lebih rendah daripada konsentrasi oksigen yang normal di udara.

Mikroba perusak pangan sebagian besar tergolong aerob, yaitu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya, kecuali bakteri yang dapat tumbuh pada saluran pencernaan manusia yang tergolong anaerob fakultatif, dan beberapa bakteri yang tergolong anaerob yang sering menyebabkan kerusakan makanan kaleng. Karena kebanyakan mikroba perusak tergolong aerob maka dengan pengemasan pangan secara vakum, yaitu pengemasan dengan menghilangkan udara dari dalam kemasan, sebagian besar mikroba perusak tidak dapat tumbuh.

Kerusakan pada pangan yang dikemas secara vakum terutama disebabkan oleh mikroba yang tergolong anaerob atau anaerob fakultatif. Kebanyakan bakteri patogen yang dapat hidup dalam saluran pencernaan bersifat anaerob fakultatif, misalnya *Salmonella* dan *Shigella*. Oleh karena itu pengemasan vakum tidak menjamin pangan bebas dari bakteri patogen. Selain itu salah satu bakteri patogen pembentuk racun yang berbahaya, yaitu *Clostridium botulinum*, bersifat anaerob dan sering ditemukan tumbuh pada makanan yang dikemas secara vakum terutama makanan kaleng.

c) Kelembaban

Pangan yang disimpan di dalam ruangan yang lembab (RH tinggi) akan mudah menyerap air sehingga nilai aktivitas air (a_w) meningkat. Kenaikan a_w akan mengakibatkan mikroba mudah tumbuh dan menyebabkan kerusakan pangan. Sebaliknya pangan yang disimpan di dalam ruangan yang mempunyai a_w rendah akan kehilangan air sehingga menjadi kering pada permukaannya. Oleh karena itu salah satu cara penyimpanan yang baik, terutama untuk produk-produk kering (a_w rendah), adalah dengan menyimpan di dalam ruangan yang kering (RH rendah) atau membungkusnya di dalam kemasan yang kedap uap air.

d) Tekanan osmotik

Keberadaan mikroorganisma dilingkungan dapat dipengaruhi kepekatan suspensi/cairan di lingkungan. Bila kepekatan suspensi di lingkungan tinggi maka isi sel akan ke luar. Sebaliknya kepekatan suspensi di lingkungan rendah maka akan terjadi pergerakan massa cair ke dalam sel.

e) Sinar ultraviolet

Sinar UV panjang gelombang 210-300 nm dapat membunuh mikroorganisme jika di paparkan. Komponen seluler yang dapat menyerap sinar UV adalah asam nukleat sehingga dapat rusak dan menyebabkan kematian.

c. Bahan-bahan Pangan yang dapat diuji secara mikrobiologis

Pangan yang mengalami kerusakan akan mengalami perubahan-perubahan seperti perubahan warna, bau, rasa, tekstur, kekentalan, dan lain-lain. Perubahan-perubahan tersebut mungkin disebabkan oleh benturan fisik, reaksi kimia, atau aktivitas organisme seperti tikus, parasit, serangga, mikroba, dan lain-lain. Berikut ini dijelaskan tanda-tanda kerusakan, terutama kerusakan mikrobiologi, yang sering terjadi pada pangan.

1) Sayuran, Buah-Buahan dan Produknya

Kerusakan sayuran dan buah-buahan sering terjadi akibat benturan fisik, kehilangan air sehingga layu, serangan serangga, dan serangan mikroba. Sayur-sayuran yang mudah rusak misalnya adalah kubis, tomat, wortel, dan lain-lain.

Tanda-tanda kerusakan mikrobiologi pada sayuran dan buah-buahan antara lain adalah:

1. Busuk air pada sayuran yang disebabkan oleh pertumbuhan beberapa bakteri, ditandai dengan tekstur yang lunak (berair).
2. Perubahan warna yang disebabkan oleh pertumbuhan kapang yang membentuk spora berwarna hitam, hijau, abu-abu, biru, ¬hijau, merah jambu, dan lain-lain.

3. Bau alkohol, rasa asam, disebabkan oleh pertumbuhan kamir atau bakteri asam laktat, misalnya pada sari buah.

2) Daging dan Produk Daging

Daging mudah sekali mengalami kerusakan mikrobiologi karena kandungan gizi dan kadar airnya yang tinggi, serta banyak mengandung vitamin dan mineral. Kerusakan pada daging ditandai dengan perubahan bau dan timbulnya lendir. Biasanya kerusakan ini. terjadi jika jumlah mikroba menjadi jutaan atau ratusan juta (10^6 – 10^8) sel atau lebih per 1 cm^2 luas permukaan daging.

Kerusakan mikrobiologi pada daging terutama disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembusuk dengan tanda-tanda sebagai berikut:

1. Pembentukan lendir
2. Perubahan warna
3. Perubahan bau menjadi busuk karena pemecahan protein dan terbentuknya senyawa-senyawa berbau busuk seperti amonia, H_2S, dan senyawa lain-lain.
4. Perubahan rasa menjadi asam karena pertumbuhan bakteri pembentuk asam.
5. Ketengikan yang disebabkan pemecahan atau oksidasi lemak daging.

Pada daging yang telah dikeringkan sehingga nilai a_w-nya rendah, misalnya daging asap atau dendeng, kerusakan terutama disebabkan oleh pertumbuhan kapang pada permukaan. Pada daging yang dikalengkan, kerusakan dapat di.sebabkan oleh bakteri pembentuk spora yang kadang-kadang membentuk gas sehingga kaleng menjadi kembung.

3) Ikan dan Produk Ikan

Kerusakan pada ikan dan produk-produk ikan terutama disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembusuk. Tanda-tanda kerusakan yang disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pada ikan yang belum diolah adalah:

1. Pembentukan lendir pada permukaan ikan.
2. Bau busuk karena terbentuknya amonia, H_2S dan senyawa-senyawa berbau busuk lainnya. Perubahan bau busuk (anyir) ini lebih cepat terjadi pada ikan laut dibandingkan dengan ikan air tawar.
3. Perubahan warna, yaitu warna kulit dan daging ikan menjadi kusam atau pucat.
4. Peruhahan tekstur, yaitu daging ikan akan berkurang kekenyalannya.
5. Ketengikan karena terjadi pemecahan dan oksidasi lemak ikan.

Pada ikan asin yang telah diolah dengan pengeringan dan penggaraman sehingga a... ikan menjadi rendah, kerusakan disebabkan oleh pertumbuhan kapang. Pada ikan asin dan ikan peda yang mengandung garam sangat tinggi (sekitar 20%), kerusakan dapat disebabkan atau bakteri yang tahan garam yang disebut bakteri halofilik.

4) Susu dan Produk Susu

Susu merupakan salah bahan pangan yang sangat mudah rusak, karena merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Tanda-tanda kerusakan mikrobiologi pada susu adalah sebagai berikut:

1. Perubahan rasa menjadi asam, disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembentuk asam, terutama bakteri asam laktat dan bakteri koli.
2. Penggumpalan susu, disebabkan oleh pemecahan protein susu oleh bakteri pemecah protein. Pemecahan protein mungkin disertai oleh terbentuknya asam atau tanpa asam.

3. Pembentukan lendir, disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembentuk lendir.
4. Pembentukan gas, disebabkan oleh pertumbuhan dua kelompok mikroba, yaitu bakteri yang membentuk gas H_2 (Hidrogen) dan CO_2 (karbon dioksida) seperti bakteri koli dan bakteri pembentuk spora, dan bakteri yang hanya membentuk CO_2 seperti bakteri asam laktat tertentu dan kamir.
5. Ketcngikan, disebabkan pemecahan lemak oleh bakteri tertentu.
6. Bau busuk, disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pemecah protein menjadi senyawa-senyawa berbau busuk.

5) Telur dan Produk Telur

Telur meskipun masih utuh dapat mengalami kerusakan, baik kerusakan fisik maupun kerusakan yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroba. Mikroba dari air, udara maupun kotoran ayam dapat masuk ke dalam telur melalui pori-pori yang terdapat pada kulit telur. Telur yang telah dipecah akan mengalami kontak langsung dengan lingkungan, sehingga lebih mudah rusak dibandingkan dengan telur yang masih utuh.

Tanda-tanda kerusakan yang sering terjadi pada telur adalah sebagai berikut:

1. Perubahan fisik, yaitu penurunan berat, pembesaran kantung udara di dalam telur, pengenceran putih dan kuning telur.
2. Timbulnya bau busuk karena pertumbuhan bakteri pembusuk.
3. Timbulnya bintik-bintik berwarna karena pertumbuhan bakteri pembentuk wama, yaitu bintik-bintik hijau, hitam, dan merah.
4. Bulukan, disebabkan oleh pertumbuhan kapang perusak telur.

Pencucian telur dengan air tidak menjamin telur menjadi lebih awet, karena jika air pencuci yang digunakan tidak bersih dan tercemar oleh bakteri, maka akan mempercepat terjadinya kebusukan pada telur. Oleh karena itu dianjurkan untuk mencuci telur yang tercemar oleh kotoran ayam menggunakan air bersih yang hangat.

6) Biji-Bijian dan Umbi-Umbian

Kandungan utama pada biji-bijian (serealia dan kacang-kacangan) serta umbi-umbian adalah karbohidrat, oleh karena itu kerusakan pada biji-bijian dan umbi-umbian sering disebabkan oleh pertumbuhan kapang yaitu bulukan. Biji-bijian dan umbi-umbian umumnya diawetkan dengan cara pengeringan, tetapi jika proses pengeringannya kurang baik sehingga a_w bahan kurang rendah, maka sering tumbuh berbagai kapang perusak pangan.

7) Makanan Kaleng

Kerusakan makanan kaleng dapat dibedakan atas kerusakan fisik, kimia dan mikrobiologi. Kerusakan fisik pada umumnya tidak membahayakan konsumen, misalnya terjadinya penyok-penyok karena benturan yang keras. Kerusakan kimia dapat berupa kerusakan zat-zat gizi, atau penggunaan jenis wadah kaleng yang tidak sesuai untuk jenis makanan tertentu sehingga terjadi reaksi kimia antara kaleng dengan makanan didalarnnya. Beberapa kerusakan kimia yang sering terjadi pada makanan kaleng misalnya kaleng menjadi kembung karena terbentuknya gas hidrogen, terbentuknya warna hitam, pemudaran warna, atau terjadi pengaratan kaleng.

Kerusakan mikrobiologi makanan kaleng dapat dibedakan atas dua kelompok, yaitu:

1. Tidak terbentuk gas sehingga kaleng tetap terlihat normal yaitu tidak kembung. Beberapa contoh kerusakan semacam ini adalah:
   - Busuk asam, yang disebabkan oleh pernbentukan asam oleh beberapa bakter-i pembentuk spora yang tergolong Bacillus.
   - Busuk sulfida, yang disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembentuk spora yang memecah protein dan menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S) sehingga makanan kaleng menjadi busuk dan berwarna hitam karena reaksi antara sulfida dengan besi.
2. Pembentukan gas, terutama hidrogen (H_2) dan karbon dioksida (CO_2) sehingga kaleng menjadi kembung, yaitu disebabkan oleh pertumbuhan berbagai spesies bakteri pernbentuk spora yang bersifat anaerobik yang tergolong *Clostridium*, termasuk *C. botulinum* yang memproduksi racun yang sangat mematikan.

Penampakan kaleng yang kembung dapat dibedakan atas beberapa jenis sebagai berikut:

1. Flipper, yaitu kaleng terlihat nonnal, tetapi bila salah satu tutupnya ditekan dengan jari, tutup lainnya akan menggembung.
2. Kembung sebelah atau springer, yaitu salah satu tutup kaleng terlihat normal, sedangkan tutup lainnya kembung. Tetapi jika bagian yang kembung ditekan akan masuk ke dalam, sedangkan tutup lainnya yang tadinya normal akan menjadi kembung.
3. Kembung lunak, yaitu kedua tutup kaleng kembung tetapi tidak keras dan masih dapat ditekan dengan ibu jari.
4. Kembung keras, yaitu kedua tutup kaleng kembung dan keras sehingga tidak dapat ditekan dengan ibu jari. Pada kerusakan yang sudah lanjut dimana gas yang terbentuk sudah sangat banyak, kaleng dapat meledak karena sambungan kaleng tidak dapat menahan tekanan gas dari dalam.

d. Peralatan pengujian secara mikrobiologis

1) Jas Laboratorium

Jas Laboratorium lebih baik seluruhnya tertutup dengan kancing. Namun, jas laboratorium dengan lengan panjang, bukaan di belakang akan memberikan perlindungan lebih baik dibanding jas laboratorium yang umum digunakan dan lebih disarankan untuk digunakan pada laboratorium mikrobiologi untuk pekerjaan yang berhubungan dengan kabinet Biosafety.



Gambar 10. Jas laboratorium

Jas laboratorium dirancang untuk melindungi kulit dan pakaian dari bahan kimia yang mungkin tumpah. Jas ini harus selalu dipakai dan lebih baik jika panjangnya selutut. Ada beberapa jenis mantel laboratorium yang berbeda untuk jenis perlindungan yang berbeda;

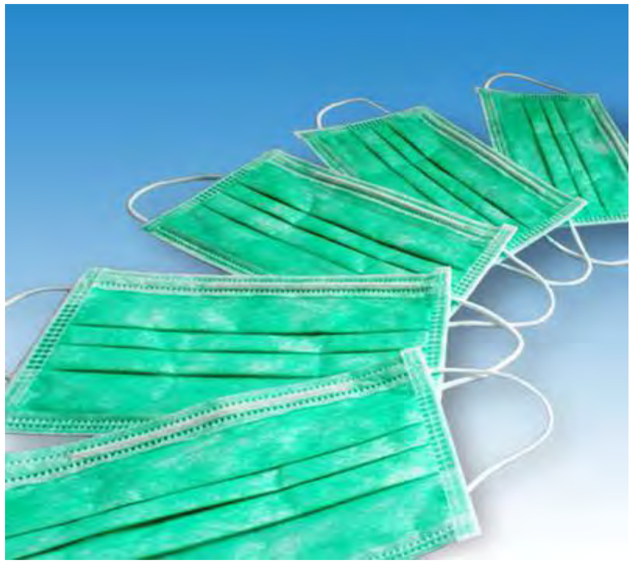
- Kapas melindungi dari objek inhalasi, tepian yang keras atau tajam dan pada umumnya perlindungan terhadap api
- Wol melindungi dari percikan bahan yang dicairkan, cuka dalam jumlah kecil, dan nyala api kecil
- Serat Buatan melindungi dari percikan dan radiasi inframerah atau ultra ungu.
- Bahan anti statik

Jas laboratorium dari serat buatan dapat meningkatkan beberapa resiko laboratorium. Sebagai contoh, beberapa bahan pelarut bisa menghancurkan beberapa kelas serat buatan tertentu, dengan demikian mengurangi efek perlindungan dari mantel tersebut. Sebagai tambahan, pada kontak dengan nyala api, beberapa serat buatan akan meleleh. Jas Laboratorium juga dapat dibuat dengan snaps/fasteners yang membuat pemakai bisa bergerak cepat dalam suatu keadaan darurat.

Celemek merupakan suatu alternatif untuk mantel laboratorium. Pada umumnya dibuat dari plastik atau karet untuk melindungi pemakai terhadap bahan kimia bersifat menghancurkan. Celemek atau apron harus dikenakan di atas jas laboratorium jika diperlukan untuk memberi perlindungan terhadap tumpahan bahan kimia atau bahan biologi seperti darah atau cairan kultur.

2) Masker

Masker berfungsi untuk melindungi pernafasan sekaligus bagian percernaan. Ketika terhirup dan tertelan. Resiko yang lebih tinggi untuk terkena ialah terhirup karena kita harus terus bernapas walaupun di tempat yang banyak bahan kimia berbahaya. Oleh karena itu disini kita perlu menggunakan masker. Ada berbagai jenis masker, mulai dari masker kain sederhana hingga masker yang menyatu dengan perisai muka dan kacamata, tergantung resiko yang dihadapi.



Gambar 11. Masker

3) Mikroskop Cahaya (Brightfield Microscope)

Salah satu alat untuk melihat sel mikroorganisme adalah mikroskop cahaya. Dengan mikroskop kita dapat mengamati sel bakteri yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Pada umumnya mata tidak mampu membedakan benda dengan diameter lebih kecil dari 0,1 mm. berikut merupakan uraian tentang cara penggunaan bagian-bagiandan spesifikasi mikroskop cahaya merk Olympus CH_20 yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi.

Bagian-bagian Mikroskop:

1. *Eyepiece / oculars* (lensa okuler) Untuk memperbesar bayangan yang dibentuk lensa objektif
2. *Revolving nosepiece* (pemutar lensa objektif) Untuk memutar objektif sehingga mengubah perbesaran
3. *Observation tube* (tabung pengamatan / tabung okuler)
4. *Stage* (meja benda) Spesimen diletakkan di sini

5. *Condenser* (condenser) Untuk mengumpulkan cahaya supaya tertuju ke lensa objektif
6. *Objective lense* (lensa objektif) Memperbesar spesimen
7. *Brightness adjustment knob* (pengatur kekuatan lampu) Untuk memperbesar dan memperkecil cahaya lampu
8. *Main switch* (tombol *on-off*)
9. *Diopter adjustmet ring* (cincin pengatur diopter) Untuk menyamakan focus antara mata kanan dan kiri
10. *Interpupillar distance adjustment knob* (pengatur jarak interpupillar)
11. *Specimen holder* (penjepit spesimen)
12. *Illuminator* (sumber cahaya)
13. *Vertical feed knob* (sekrup pengatur vertikal) Untuk menaikkan atau menurunkan *object glass*
14. *Horizontal feed knob* (sekrup pengatur horizontal) Untuk menggeser ke kanan / kiri objek glas
15. *Coarse focus knob* (sekrup fokus kasar) Menaik turunkan meja benda (untuk mencari fokus) secara kasar dan cepat
16. *Fine focus knob* (sekrup fokus halus) Menaik turunkan meja benda secara halus dan lambat
17. *Observation tube securing knob* (sekrup pengencang tabung okuler)
18. *Condenser adjustment knob* (sekrup pengatur kondenser) Untuk menaik-turunkan kondenser

kasar (15) sehingga meja benda bergerak ke atas untuk mencari fokus

b. Setelah fokus perbesaran 4 x 10 didapatkan, maka putar (2) pada perbesaran selanjutnya yaitu perbesaran objektif 10x. Kemudian putar sekrup halus (16) untuk mendapatkan fokusnya

c. Lakukan hal yang sama jika menggunakan perbesaran yang lebih tinggi

Berikut adalah tabel yang menunjukan jarak antara spesimen dengan lensa objektif jika okus telah didapatkan

Perbesaran objektif	4x	10x	40x	60x
Jarak A (mm)	29	6,3	0,53	0,29

Catatan: Setelah mendapatkkan fokus pada perbesaran tetentu, misal 40x, dan ingin memutar objektif ke perbesaran 100x, maka meja benda tidak perlu diturunkan dan tidak perlu khawatir bahwa lensa objektif akan menggesek *cover glass* karena terdapat sisa jarak A yang lebih kecil antara *cover glass* dengan lensa objektif (lihat tabel diatas).

4) Tambahan

a. Jika perlu *interpupillar distance adjustment knob* (10) dapat digeser, hal ini akan mengubah dua bayangan yang akan diterima oleh 2 mata menjadi gambar yang tunggal sehingga sangat membantu dalam mengatasi kelelahan mata

b. Jika perlu *diopter adjustment knob* (9) dapat diatur untuk memperoleh bayangan focus yang seimbang antara mata kanan dan kiri

c. Pengaturan *condenser* (5) akan memperjelas bayangan yang tampak dengan mensetting pada posisi tertinggi (cahaya penuh)

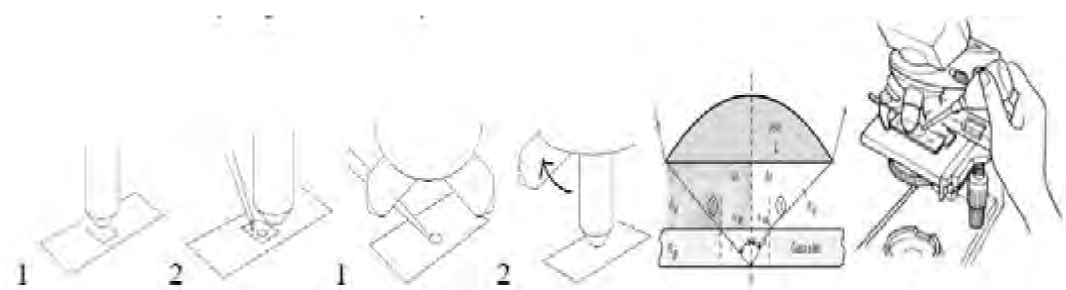
5) Perbesaran total

Ukuran specimen yang diamati dapat diperoleh dengan mengalikan perbesaran lensa okuler dengan lensa objektif. Misal = Okuler (10x) x Objektif (40x) = 400x

6) Penggunaan minyak imersi

Semakin kecil nilai daya pisah, akan semakin kuat kemampuan lensa untuk memisahkan dua titikyang berdekatan pada preparat sehingga struktur benda terlihat lebih jelas. Daya pisah dapat diperkuat dengan memperbesarkan indeks bias atau menggunakan cahaya yang memiliki panjang gelombang (λ) pendek. Biasanya dapat digunakan minyak imersi untuk meningkatkan indeks bias pada perbesaran 10 x 100

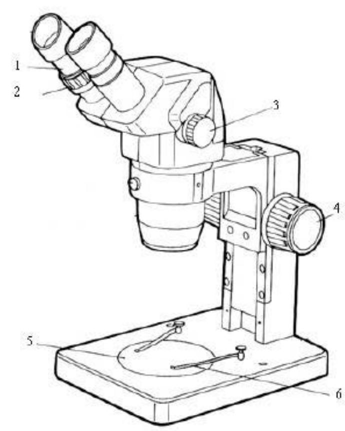
a. Jika fokus pada perbesaran 10 x 40 telah didapatkan maka putar ke perbesaran objektif 100x
b. tetesi minyak imersi 1 – 2 tetes dari sisi lensa
c. Jika telah selesai menggunakan mikroskop, bersihkan lensa objektif 100x dengan kertas lensa yang dibasahi xylol



7) **Mikroskop stereo (Zoom Stereo Microscope)**

Mikroskop ini berfungsi untuk melihat objek yang membutuhkan perbesaran tidak terlalu besar. Di Laboratorium Mikrobiologi, mikroskop stereo biasanya digunakan untuk mengamati secara detail bentuk koloni dan jamur. Berikut merupakan uraian tentang mikroskop stereo yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi yaitu *Zoom Stereo Microscope*, Olimpus SZ3060.

1. *Oculars eyepiece* (lensa okuler)
2. *Diopter adjustment ring* (cincin pengatur diopter)
3. *Zoom control knob* (sekrup pengatur pembesaran)
4. *Focusing knob* (sekrup pengatur fokus)
5. *Stage plate* (pelat tempat specimen diletakkan)
6. *Stage clip* (penjepit spesimen / preparat)



Gambar 13. Mikroskop stereo

Prosedur operasi :

1. Letakkan spesimen / preparat di stage plate (5), jepit jika perlu
2. Atur perbesaran pada perbesaran terkecil dengan memutar *Zoom Control Knob* (3) kemudian dicari fokusnya dengan memutar *Focusing Knob* (4)

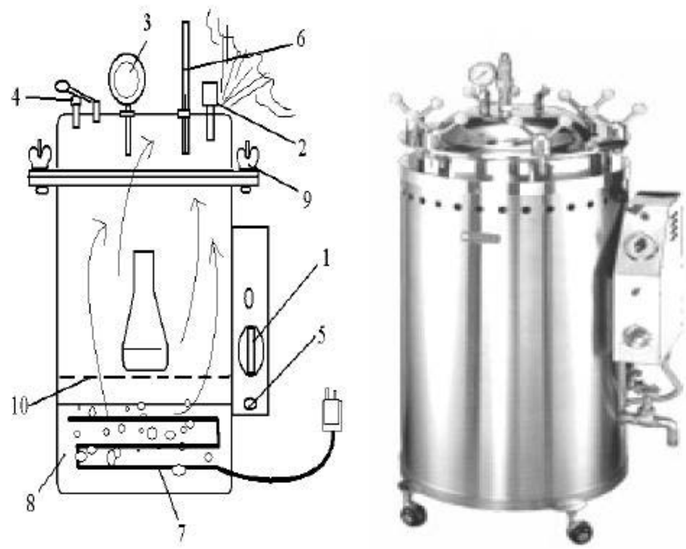
3. Jika ingin mendapatkan bayangan yang lebih besar, putar *Zoom Control Knob* (3) ke perbesaran yang lebih tinggi kemudian dicari fokusnya Mikroskop ini memiliki pilihan perbesaran:

Okuler	Objektif	total
10 x	0,67 x	6,7 x
	0,9 x	9 x
	1 x	10 x
	2 x	20 x
	4 x	40 x

8) Autoklaf (*Autoclave*)

Diagram autoklaf vertical

1. Tombol pengatur waktu mundur (*timer*)
2. Katup pengeluaran uap
3. pengukur tekanan
4. kelep pengaman
5. Tombol *on-off*
6. Termometer
7. Lempeng sumber panas
8. Aquades (dH2O)
9. Sekrup pengaman
10. batas penambahan air



Gambar 14. Autoklaf

Autoclave adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121oC (250oF). Jadi tekanan yang bekerja ke seluruh permukaan benda adalah 15 pon tiap inchi2 (15 Psi = 15 *pounds per square inch*). Lama sterilisasi yang dilakukan biasanya 15 menit untuk 121oC.

Cara Penggunaan Autoklaf:

1. Sebelum melakukan sterilisasi cek dahulu banyaknya air dalam autoklaf. Jika air kurang dari batas yang ditentukan, maka dapat ditambah air sampai batas tersebut. Gunakan air hasil destilasi, untuk menghindari terbentuknya kerak dan karat.
2. Masukkan peralatan dan bahan. Jika mensterilisasi botol beretutup ulir, maka tutup harus dikendorkan.

3. Tutup autoklaf dengan rapat lalu kencangkan baut pengaman agar tidak ada uap yang keluar dari bibir autoklaf. Klep pengaman jangan dikencangkan terlebih dahulu.
4. Nyalakan autoklaf, diatur *timer* dengan waktu minimal 15 menit pada suhu 121oC.
5. Tunggu samapai air mendidih sehingga uapnya memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar dari klep pengaman. Kemudian klep pengaman ditutup (dikencangkan) dan tunggu sampai selesai. Penghitungan waktu 15’ dimulai sejak tekanan mencapai 2 atm.
6. Jika alarm tanda selesai berbunyi, maka tunggu tekanan dalam kompartemen turun hingga sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada *preisure gauge* menunjuk ke angka nol). Kemudian klep-klep pengaman dibuka dan keluarkan isi autoklaf dengan hati-hati.

9) Inkubator (*Incubator*)

Inkubator adalah alat untuk menginkubasi atau memeram mikroba pada suhu yang terkontrol. Alat ini dilengkapi dengan pengatur suhu dan pengatur waktu. Kisaran suhu untuk inkubator produksi Heraeus B5042 misalnya adalah 10-70^{o}C..



Gambar 15. Inkubtor

10) Hot plate stirrer dan Stirre bar

Hot plate stirrer dan Stirrer bar (magnetic stirrer) berfungsi untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan. Pelat (plate) yang terdapat dalam alat ini dapat dipanaskan sehingga mampu mempercepat proses homogenisasi. Pengadukan dengan bantuan batang magnet Hot plate dan magnetic stirrer seri SBS-100 dari SBS® misalnya mampu menghomogenkan sampai 10 L, dengan kecepatan sangat lambat sampai 1600 rpm dan dapat dipanaskan sampai 425oC.



Gambar 16. Hot plate dan stire bar

11) Colony counter

Alat ini berguna untuk mempermudah perhitungan koloni yang tumbuh setelah diinkubasi di dalam cawankarena adanya kaca pembesar. Selain itu alat tersebut dilengkapi dengan skala/ kuadran yang sangat berguna untuk pengamatan pertumbuhan koloni sangat banyak. Jumlah koloni pada cawan Petri dapat ditandai dan dihitung otomatis yang dapat di-*reset*.



Gambar 17. ***Colony counter***

12) Biological Safety Cabinet

Biological Safety Cabinet (BSC) atau dapat juga disebut *Laminar Air Flow* (LAF) adalah alat yang berguna untuk bekerja secara aseptis karena BSC mempunyai pola pengaturan dan penyaring aliran udara sehingga menjadi steril dan aplikasisinar UV beberapa jam sebelum digunakan. Prosedur penggunaan BSC seri 36212, Purifier™ Biological Safety Cabinet dari LABCONCO yang dimiliki laboratorium mikrobiologi adalah sebagai berikut:

1. Hidupkan lampu UV selama 2 jam, selanjutnya matikan segera sebelum mulai bekerja
2. Pastikan kaca penutup terkunci dan pada posisi terendah
3. Nyalakan lampu neon dan blower
4. Biarkan selama 5 menit
5. Cuci tangan dan lengan dengan sabun gemisidal / alkohol 70 %

6. Usap permukaan interior BSC dengan alkohol 70 % atau desinfektan yang cocok dan biarkan menguap
7. masukkan alat dan bahan yang akan dikerjakan, jangan terlalu penuh (*overload*) karena memperbesar resiko kontaminan
8. Atur alat dan bahan yang telah dimasukan ke BSC sedemikian rupa sehingga efektif dalam bekerja dan tercipta areal yang benar-benar steril
9. Jangan menggunakan pembakar Bunsen dengan bahan bakar alkohol tapi gunakan yang berbahan bakar gas.
10. Kerja secara aseptis dan jangan sampai pola aliran udara terganggu oleh aktivitas kerja
11. setelah selesai bekerja, biarkan 2-3 menit supaya kontaminan tidak keluar dari BSC
12. Usap permukaan interior BSC dengan alkohol 70 % dan biarkan menguap lalu tangan dibasuh dengan desinfektan
13. Matikan lampu neon dan blower



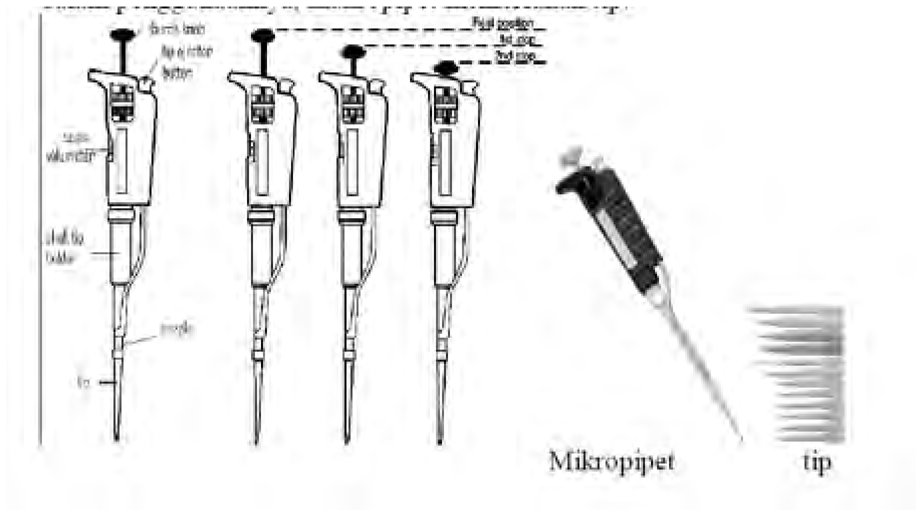
Gambar 18. ***Biological Safety Cabinet***

13) Mikropipet *(Micropippete)* dan Tip

Mikropipet adalah alat untuk memindahkan cairan yang bervolume cukup kecil, biasanya kurang dari 1000 µl. Banyak pilihan kapasitas dalam mikropipet, misalnya mikropipet yang dapat diatur volume pengambilannya (*adjustable volume pipette*) antara 1µl sampai 20 µl, atau mikropipet yang tidak bisa diatur volumenya, hanya tersedia satu pilihan volume (*fixed volume pipette*) misalnya mikropipet 5 µl. dalam penggunaannya, mukropipet memerlukan tip.

Cara Penggunaan Mikropipet dan Tip :

1. Sebelum digunakan *Thumb Knob* sebaiknya ditekan berkali-kali untuk memastikan lancarnya mikropipet.
2. Masukkan Tip bersih ke dalam *Nozzle* / ujung mikropipet.
3. Tekan *Thumb Knob* sampai hambatan pertama / *first stop*, jangan ditekan lebih ke dalam lagi.
4. Masukkan tip ke dalam cairan sedalam 3-4 mm.
5. Tahan pipet dalam posisi vertikal kemudian lepaskan tekanan dari *Thumb Knob* maka cairan akan masuk ke tip.
6. Pindahkan ujung tip ke tempat penampung yang diinginkan.
7. Tekan *Thumb Knob* sampai hambatan kedua / *second stop* atau tekan semaksimal mungkin maka semua cairan akan keluar dari ujung tip.
8. Jika ingin melepas tip putar *Thumb Knob* searah jarum jam dan ditekan maka tip akan terdorong keluar dengan sendirinya, atau menggunakan alat tambahan yang berfungsi mendorong tip keluar.



Gambar 19. Mikropipet *(Micropippete)* dan Tip

14) Cawan Petri (Petri Dish)

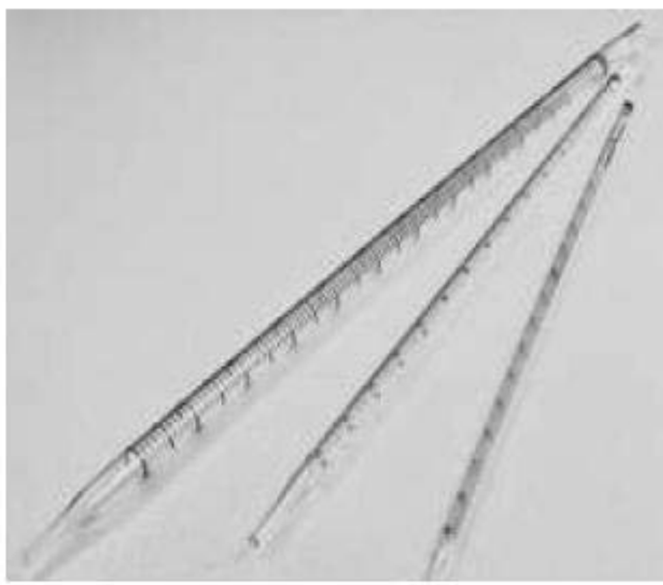
Cawan petri berfungsi untuk membiakkan (kultivasi) mikroorganisme. Medium dapat dituang ke cawan bagian bawah dan cawan bagian atas sebagai penutup. Cawan petri tersedia dalam berbagai macam ukuran, diameter cawan yang biasa berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan berdiameter 9 cm kira-kira cukup diisi media sebanyak 10 ml.



Gambar 20. Cawan petri

15) Pipet Ukur (Measuring Pippete)

Pipet ukur merupakan alat untuk memindahkan larutan dengan volume yang diketahui. Tersedia berbagai macam ukuran kapasitas pipet ukur, diantaranya pipet berukuran 1 ml, 5 ml dan 10 ml. Cara penggunaanya adalah cairan disedot dengan pipet ukur dengan bantuan *filler* sampai dengan volume yang diingini. Volume yang dipindahkan dikeluarkan menikuti skala yang tersedia (dilihat bahwa skala harus tepat sejajar dengan mensikus cekung cairan) dengan cara menyamakan tekanan *filler* dengan udara sekitar.



Gambar 21. Pipet ukur

16) Pipet tetes (Pasteur Pippete)

Fungsinya sama dengan pipet ukur, namun volume yang dipindahkan tidak diketahui. Salah satu penerapannya adalah dalam menambahkan HCl / NaOH saat mengatur pH media, penambahan reagen ada uji biokimia, dll.



Gambar 22. Pipet tetes

17) Tabung reaksi (Reaction Tube / Test Tube)

Di dalam mikrobiologi, tabung reaksi digunakan untuk uji-uji biokimiawi dan menumbuhkan mikroba.Tabung reaksi dapat diisi media padat maupun cair. Tutup tabung reaksi dapat berupa kapas, tutup metal,tutup plastik atau aluminium foil. Media padat yang dimasukkan ke tabung reaksi dapat diatur menjadi 2 bentuk menurut fungsinya, yaitu media agar tegak (*deep tube agar*) dan agar miring (*slants agar*). Untuk membuat agar miring, perlu diperhatikan tentang kemiringan media yaitu luas permukaan yang kontak dengan udara tidak terlalu sempit atau tidak terlalu lebar dan hindari jarak media yang terlalu dekat dengan mulut tabung karena memperbesar resiko kontaminasi. Untuk alas an efisiensi, media yang ditambahkan berkisar 10-12 ml tiap tabung.



Gambar 23. Tabung reaksi

18) Labu Erlenmeyer (Erlenmeyer Flask)

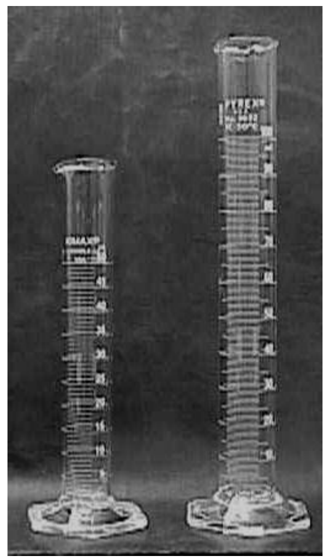
Berfungsi untuk menampung larutan, bahan atau cairan yang. Labu Erlenmeyer dapat digunakan untuk meracik dan menghomogenkan bahan-bahan komposisi media, menampung akuades, kultivasi mikroba dalam kultur cair, dll. Terdapat beberapa pilihan berdasarkan volume cairan yang dapat ditampungnya yaitu 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 300 ml, 500 ml, 1000 ml, dsb.



Gambar 24. Labu erlemeyer

19) Gelas ukur (Graduated Cylinder)

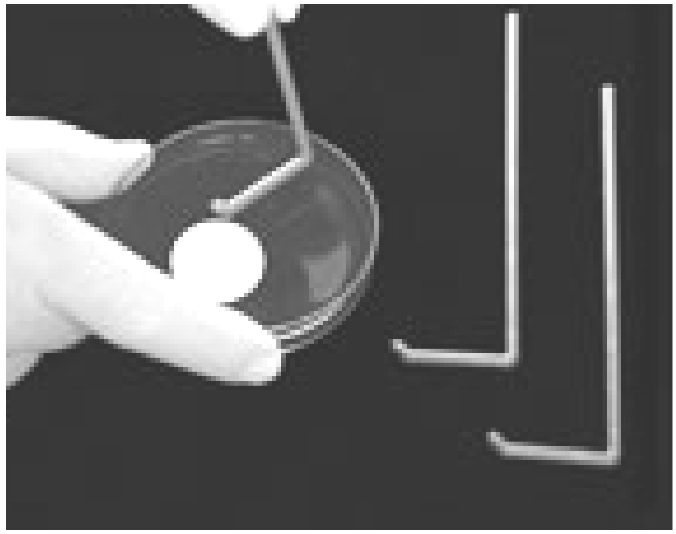
Berguna untuk mengukur volume suatu cairan, seperti labu erlenmeyer, gelas ukur memiliki beberapa pilihan berdasarkan skala volumenya. Pada saat mengukur volume larutan, sebaiknya volume tersebut ditentukan berdasarkan meniskus cekung larutan.



Gambar 25. Gelas ukur

20) Batang L (*L Rod*)

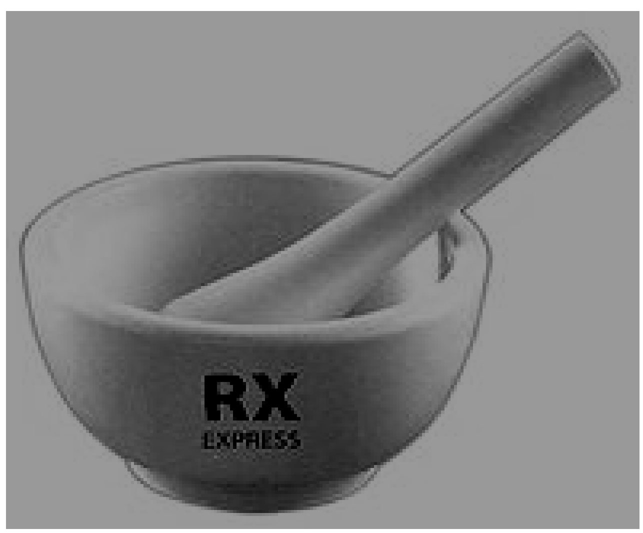
Batang L bermanfaat untuk menyebarkan cairan di permukaan agar supaya bakteri yang tersuspensi dalam cairan tersebut tersebar merata. Alat ini juga disebut *spreader.*



Gambar 26. Batang L

21) Mortar dan *Pestle*

Mortar dan penumbuk (*pastle*) digunakan untuk menumbuk atau menghancurkan materi cuplikan, misal daging, roti atau tanah sebelum diproses lebih lanjut.



Gambar 27. Mortar dan pastle

22) Beaker Glass

Beaker glass merupakan alat yang memiliki banyak fungsi. Di dalam mikrobiologi, dapat digunakan untuk preparasi media media, menampung akuades dll..



Gambar 28. Beaker glass

23) Pembakar Bunsen (Bunsen Burner)

Salah satu alat yang berfungsi untuk menciptakan kondisi yang steril adalah pembakar bunsen. Api yang menyala dapat membuat aliran udara karena oksigen dikonsumsi dari bawah dan diharapkan kontaminan ikut terbakar dalam pola aliran udara tersebut. Untuk sterilisasi jarum ose atau yang lain, bagian api yang paling cocok untuk memijarkannya adalah bagian api yang berwarna biru (paling panas). Perubahan bunsen dapat menggunakan bahan bakar gas atau metanol.



Gambar 29. Pembakar bunsen

24) Glass Beads

Glass Beads adalah manik-manik gelas kecil yang digunakan untuk meratakan suspensi biakan dengan menyebarkan beberapa butir di atas permukaan agar dan digoyang merata. *Glass beads* digunakan pada teknik *spread plate* yang fungsinya sama dengan batang L atau *Spreader*.

25) Tabung Durham

Tabung durham berbentuk mirip dengan tabung reaksi namun ukurannya lebih kecil dan berfungsi untuk menampung/menjebak gas yang terbentuk akibat metabolisme pada bakteri yang diujikan. Penempatannya terbalik dalam tabung reaksi dan harus terendam sempurna dalam media (jangan sampai ada sisa udara).

26) Jarum Inokulum

Jarum inokulum berfungsi untuk memindahkan biakan untuk ditanam/ditumbuhkan ke media baru. Jarum inokulum biasanya terbuat dari kawat nichrome atau platinum sehingga dapat berpijar jika terkena panas. Bentuk ujung jarum dapat berbentuk lingkaran (*loop*) dan disebut ose atau *inoculating loop/transfer loop*, dan yang berbentuk lurus disebut *inoculating needle/Transfer needle*. *Inoculating loop* cocok untuk melakukan *streak* di permukaan agar, sedangkan *inoculating needle* cocok digunakan untuk inokulasi secara tusukan pada agar tegak (*stab inoculating*). Jarum inokulum ini akan sangat bermanfaat saat membelah agar untuk preprasi *Heinrich's Slide Culture*.



Gambar 30. Jarum inokulum

27) Pinset

Pinset memiliki banyak fungsi diantaranya adalah untuk mengambil benda dengan menjepit misalnya saat memindahkan cakram antibiotik.



Gambar 31. Pinset

28) pH Indikator Universal

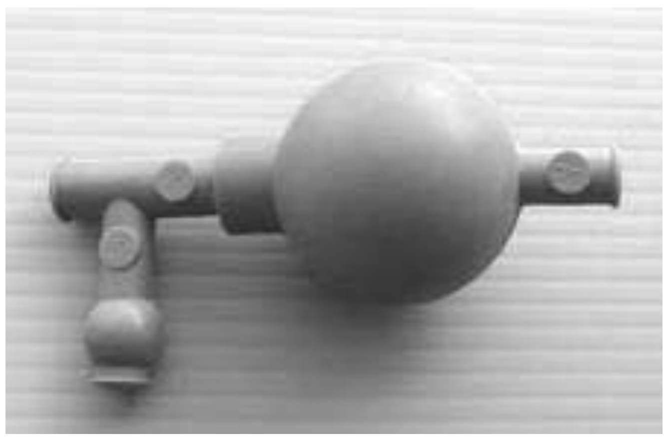
berguna untuk mengukur/mengetahui pH suatu larutan. Hal ini sangat penting dalam pembuatan media karena pH pada media berpengaruh terhadap petumbuhan mikroba. Kertas pH indikator dicelupkan sampai tidak ada perubahan warna kemudian strip warna dicocokkan dengan skala warna acuan.



Gambar 32. pH Indikator Universal

29) Pipet Filler / Rubber Bulb

Filler adalah alat untuk menyedot larutan yang dapat dipasang pada pangkal pipet ukur. Karet sebagai bahan *filler* merupakan karet yang resisten bahan kimia. *Filler* memiliki 3 saluran yang masing-masing saluran memiliki katup. Katup yang bersimbol A (*aspirate*) berguna untuk mengeluarkan udara dari gelembung. S (*suction*) merupakan katup yang jika ditekan maka cairan dari ujung pipet akan tersedot ke atas. Kemudian katup E (*exhaust*) berfungsi untuk mengeluarkan cairan dari pipet ukur.



Gambar 33. *Pipet Filler / Rubber Bulb*

e. Metode Pengujian Secara Mikrobiologis

1) Menyiapkan peralatan dan media kultur mikroba

Tidak ada media tunggal yang hanya ditumbuhi oleh satu jenis mikroba. Setiap media dapat ditumbuhi oleh beberapa jenis mikroba. Makin spesifik suatu media, maka semakin sedikit jenis mikroba yang dapat tumbuh pada media tersebut, dengan demikian makin baik media tersebut untuk menetapkan jenis mikroba kontaminan. Namun karena tidak ada satu jenis media yang hanya dapat ditumbuhi oleh satu jenis mikroba, maka perlu menggunakan kombinasi beberapa media. Bila

menggunakan media seperti dianjurkan oleh Farmakope, pada umumnya sudah cukup untuk menetapkan jenis mikroba kontaminan patogen yang dipersyaratkan. Bila menggunakan beberapa media secara bersama dapat menimbulkan permasalahan, karena jika kontaminan lebih dari satu jenis maka koloni pada media yang berbeda mungkin dari jenis berbeda. Dengan demikian media satu tidak memperkuat kesimpulan dari media yang lain. Disamping itu, penggunaan beberapa media secara bersama dapat menjadi pemborosan. Untuk mengantisipasi hal ini dapat dilakukan satu media pada tahap pertama dan dilanjutkan dengan media lain jika hasilnya meragukan. Akan tetapi yang menjadi pertanyaan adalah media yang mana harus digunakan lebih dahulu. Untuk menentukan media yang dipergunakan maka diperlukan analisa mengenai sifat mikroba yang diuji dan media yang digunakan.

Komponen yang terkandung pada media dan reaksi/respon yang terjadi bila suatu jenis mikroba tumbuh merupakan pengetahuan yang sangat diperlukan. Dari pengetahuan tersebut maka urutan media yang digunakan akan lebih mudah ditentukan dan hasilnya akan saling memperkuat untuk menetapkan jenis kontaminan tersebut. Namun dengan cara demikian walaupun dapat menghemat penggunaan media dan jenis kontaminan dapat ditetapkan dengan yang lebih baik tetapi memerlukan waktu pengujian lebih lama.

Penyiapan peralatan

Peralatan utama yang perlu dipersiapkan dalam analisis biologis adalah tabung uji dan cawan petri, ose (*loop*) dan jarum (*needle*), pipet, ruang kultur, shaking waterbath, dan refrigerator. Tabung uji dan cawan petri digunakan untuk mengkultur mikroba. Tabung uji terbuat dari kaca, sedangkan cawan petri terbuat dari kaca atau plastik. Media tumbuh

yang ditambahkan ke tabung uji dapat berupa media kaldu atau agar, sedangkan pada cawan petri hanya berbentuk agar.

Tabel 14. Mikroba, media, dan karakteristik

Mikroba	Media	Karakteristik
Staphylococcus aureus	**Mannitol salt agar (MSA)** **Vogel Johnson Agar (VGA)** **Baird Parker Agar (BPA)**	Kuning dengan zona kuning Hitam dikelilingi zona kuning zona jernih
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide Agar Medium (CAM) Pseudomonas Agar Mediumdeteksi fluoresin (PAM-p)	Kehijauan Kekuningan
Salmonella sp.	**Bismuth Sulfite Agar (BSA)** **riliant Green Agar (BGA)** Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar Medium (XLD)	**Hitam atau hijau** Hitam atau hijau Kecil, transparan, tidak berwarna atau merah muda hingga buram, dikelilingi zona merah muda Merah, dengan atau tanpa pusat berwarna hitam
Eschericia coli	Eschericia coli Eosin Methylene Blue (L.EMB) **MacConkey Agar (MCA)**	Koloni hitam dengan kilap Logam Merah bata, dikelilingi endapan empedu

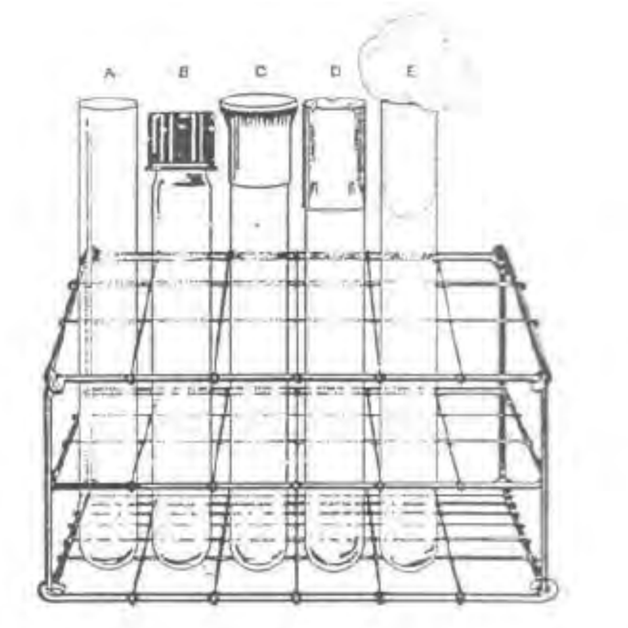
Kondisi steril dalam tabung kultur dipertahankan dengan berbagai tipe penutup. Tipe penutup yang pertama adalah **cotton plug** yang dikembangkan oleh Schroeder dan von Dusch di abad ke-19. Pada saat

ini banyak digunakan **sleevelike cup** yang terbuat dari logam atau plastik tahan panas.

Cawan petri memiliki permukaan yang relatif labih luas untuk pertumbuhan dan pengembangan mikroba dibandingkan dengan tabung uji. Cawan petri terdiri dari dua bagian. Bagian bawah cawan yang mengandung medium dan bagian atas cawan yang berfungsi sebagai penutup. Cawanpetri dibuat dengan berbagai ukuran, sesuai kebutuhan penelitian. Umumnya digunakan cawan petri dengan diameter 15 cm. Media agar cair steril dari *agar deep tube* sebanyak 15-20 ml dituangkan ke cawan yang telah disterilkan sebelumnya. Dapat juga medium cair steril yang dibuat dalam labu 250 atau 500 ml. Bila didinginkan hingga suhu 40 oC, medium tersebut akan membeku.



Gambar 34. Cotton plog



Gambar 35. Sleevelike cup

Sumber : Cappuccino, 1987

Pada saat inkubasi, cawan petri harus disimpan dalam inkubator dengan posisi terbalik. Bagian tutupnya terletak di bagian bawah. Posisi demikian bertujuan untuk mencegah pengembunan pada permukaan tutup selama pembekuan media agar menetes ke permukaan media agar. Mikroba perlu dipindahkan dari satu tempat ke tempat lainnya atau dari *stock culture* ke berbagai media untuk dipelihara atau dipelajari. Pemindahan tersebut disebut *subculturing* dan harus dilakukan dalam kondisi lingkungan steril untuk mencegah kemungkinan terjadinya kontaminasi. Pemindahan mikroba dapat dilakukan dengan menggunakan kawat ose dan jarum (Gambar 35). Keduanya terbuat dari ni kel atau platina dan dimasukkan ke dalam logam yang berfungsi sebagai pegangan. Keduanya merupakan peralatan yang tahan dan mudah disterilisasi dengan membakarnya dalam bagian api yang biru dari api pembakaran Bunsen.

Pemindahan mikroba secara steril juga dapat dilakukan dengan menggunakan pipet. Pipet dapat berperan sebagai sedotan yang mengangkat cairan. Alat ini terbuat dari kaca atau plastik. Pipet dapat disterilisasi dengan cara memasukkan semuanya ke *kanister* atau masing-masing dibungkus kertas coklat dan disterilisasi dalam otoklaf *(autoclave*) atau oven pengering panas.

2) Sterilisasi

Sterilisasi yaitu proses atau kegiatan membebaskan suatu bahan atau benda dari semua bentuk kehidupan.

Macam-macam sterilisasi

Pada prinsipnya sterilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu secara mekanik, fisik dan kimiawi.

a. Sterilisai secara mekanik (filtrasi) menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0.22mikron atau 0.45 mikrob) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka panas, misal nya larutan enzim dan antibiotik.
b. Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & penyinaran.

   Pemanasan

   - Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat: jarum inokulum, pinset, batang L, dll.
   - Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 60-1800C. Sterilisasi panas kering cocok untuk alat yang terbuat dari kaca misalnya erlenmeyer, tabung reaksi dll.

- Uap air panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air lebih tepat menggungakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi.
- Uap air panas bertekanan : menggunalkan autoklaf

Penyinaran dengan UV

Sinar Ultra Violet juga dapat digunakan untuk proses sterilisasi, misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan interior Safety Cabinet dengan disinari lampu UV.

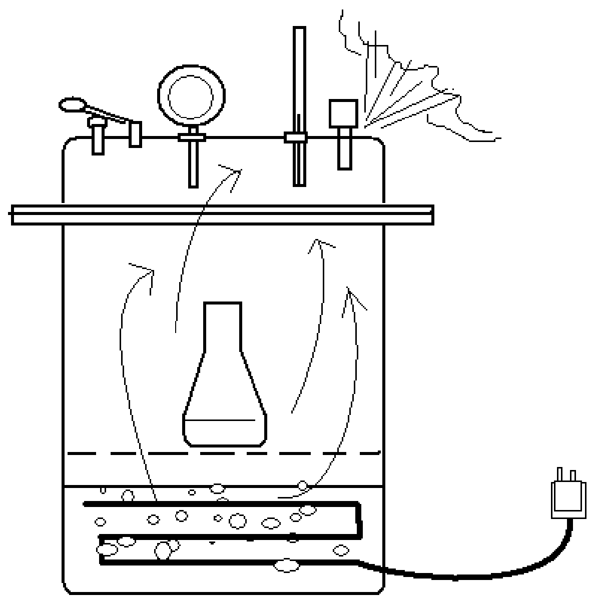
c. Sterilisaisi secara kimiawi biasanya menggunakan senyawa desinfektan antara lain alkohol.

Sterilisasi dengan menggunakan Autoklaf (uap air panas bertekanan)

Prinsip cara kerja autoklaf

Seperti yang telah dijelaskan sebagian pada bab pengenalan alat, autoklaf adalah alat untuk memsterilkan berbagai macam alat & bahan yang menggunakan tekanan 15 psi (2 atm) dan suhu 1210C. Untuk cara kerja penggunaan autoklaf telah disampaikan di depan. Suhu dan tekanan tinggi yang diberikan kepada alat dan media yang disterilisasi memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mesterilkan media digunakan suhu 1210C dan tekanan 15 lb/in2 (SI = 103,4 Kpa) selama 15 menit. Alasan digunakan suhu 1210C atau 249,8 0F adalah karena air mendidih pada suhu tersebut jika digunakan tekanan 15 psi. Untuk tekanan 0 psi pada ketinggian di permukaan laut (*sea level*) air mendidih pada suhu 1000C, sedangkan untuk autoklaf yang diletakkan di ketinggian sama, menggunakan tekanan 15 psi maka air akan memdididh pada suhu 1210C. Ingat kejadian ini hanya berlaku untuk sea level, jika dilaboratorium terletak pada ketinggian tertentu, maka pengaturan

tekanan perlu disetting ulang. Misalnya autoklaf diletakkan pada ketinggian 2700 kaki dpl, maka tekanan dinaikkan menjadi 20 psi supaya tercapai suhu 1210C untuk mendidihkan air. Semua bentuk kehidupan akan mati jika dididihkan pada suhu 1210C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.



Gambar 36. Kerja autoklaf

Pada saat sumber panas dinyalakan, air dalam autoklaf lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk mendesak udara yang mengisi autoklaf. Setelah semua udara dalam autoklaf diganti dengan uap air, katup uap/udara ditutup sehingga tekanan udara dalam autoklaf naik. Pada saat tercapai tekanan dan suhu yang sesuai., maka proses sterilisasi dimulai dan *timer* mulai menghitung waktu mundur. Setelah proses sterilisasi selesai, sumber panas dimatikan dan tekanan dibiarkan turun perlahan hingga mencapai 0 psi. Autoklaf tidak boleh dibuka sebelum tekanan mencapai 0 psi. Untuk mendeteksi bahwa autoklaf bekerja dengan sempurna dapat digunakan mikroba penguji yang bersifat termofilik dan memiliki endospora yaitu *Bacillus*

stearothermophillus, lazimnya mikroba ini tersedia secara komersial dalam bentuk *spore strip*. Kertas *spore strip* ini dimasukkan dalam autoklaf dan disterilkan. Setelah proses sterilisai lalu ditumbuhkan pada media. Jika media tetap bening maka menunjukkan autoklaf telah bekerja dengan baik. Beberapa media atau bahan yang tidak disterilkan dengan autoklaf adalah :

a. Bahan tidak tahan panas seperti serum, vitamin, antibiotik, dan enzim
b. Paelarut organik, seperti fenol
c. Buffer engan kandungan detergen, seperti SDS Untuk mencegah terjadinya presipitasi, pencoklatan (media menjadi coklat) dan hancurnya substrat dapat dilakukan pencegahan sbb :
d. Glukosa disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa fosfat
e. Senyawa fosfat disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa garam mineral lain.
f. Senyawa garam mineral disterilkan terpisah dengan agar
g. Media yang memiliki pH > 7,5 jangan disterilkan dengan autoklaf
h. Jangan mensterilisasi larutan agar dengan pH < 6,0

Erlenmeyer hanya boleh diisi media maksimum ¾ dari total volumenya, sisa ruang dibirkan kosong. Jika mensterilkan media 1L yang ditampung pada erlenmeyer 2L maka sterilisasi diatur dengan waktu 30 menit.

Sterilisasi dengan penyaringan (filtrasi)

Sterilisasi dengan penyaringan dilakukan untuk mensterilisasi cairan yagn mudah rusak jika terkena panas atu mudah menguap (*volatile*). Cairan yang disterilisasi dilewatkan ke suatu saringan (ditekan dengan gaya sentrifugasi atau pompa vakum) yang berpori dengan diameter

yang cukup kecil untuk menyaring bakteri. Virus tidak akan tersaring dengan metode ini.

Sterilisasi dengan penyaringan dapat dilakukan dengan berbagai cara :

a. Non-disposable filtration apparatus

- Disedot dengan pompa vakum
- Volume 20-1000 ml

b. *Disposable filter cup unit*

- Disedot dengan pompa vakum
- Volume 15-1000 ml

c. *Disposable filtration unit* dengan botol penyimpan

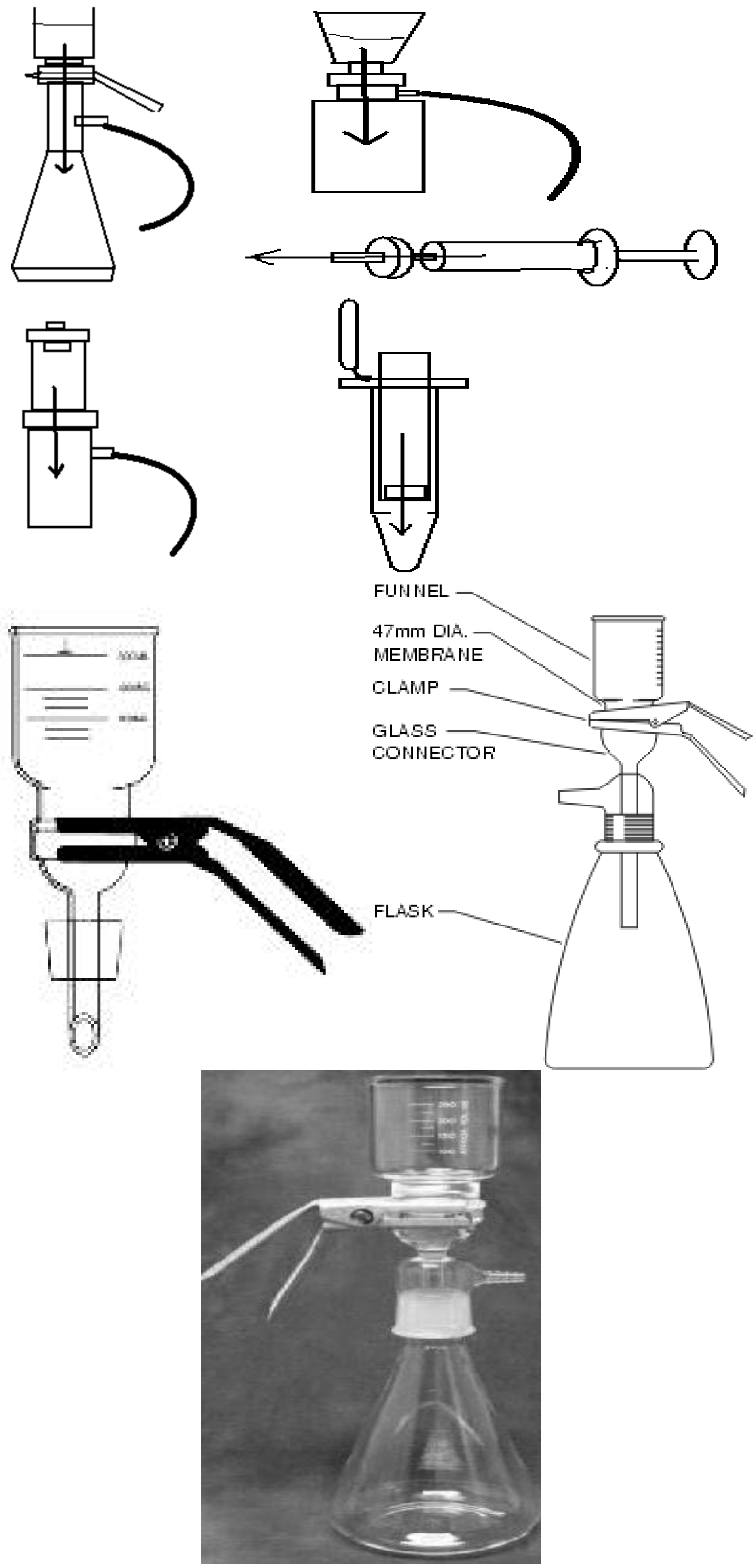
- Disedot dengan pompa vakum
- Volume 15-1000 ml

d. Syringe filters

- Ditekan seperti jarum suntik
- Volume 1-20 ml

e. Spin filters

- Ditekan dengan gaya setrifugasi
- Volume kurang dari 1 ml



Gambar 37. Peralatan sterilisasi

Cara kerja menggunakan Non-disposable filtration apparatus

a. Sterilkan saringan (dapat menggunakan saringan Bekerfeld, Chamberland Zeitz), membran penyaring (kertas saring) dan erlenmeyer penampung.

b. Pasang atau rakit alat-alat tersebut secara aseptis (sesuai gambar), lalu isi corong dengan larutan yang akan disterilkan.

c. Hubungkan katup erlenmeyer dengan pompa vakum kemudian hidupkan pompa.

d. setelah semua larutan melewati membran filter dan tertampung dierlenmeyer, maka larutan dapat dipindahkan kedalam gelas penampung lain yang sudah steril dan tutup dengan kapas atau aluminium foil yang steril.

Tyndalisasi

Konsep kerja metode ini merip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air dan tidak tahan tekanan atau suhu tinggi lebih tepat disterilkan dengan metode ini. Misalnya susu yang disterilkan dengan suhu tinggi akan mengalami koagulasi dan bahan yang berpati disterilkan pada suhu bertekanan pada kondisi pH asam akan terhidrolisis.

Cara kerja :

a) Bahan dimasukkan kedalam erlenmeyer atau botol dan ditutup rapat dengan sumbat atau aluminium foil.
b) Erlenmeyer/botol lalu dimasukkan kedalam alat sterilisasi (alat standar menggunakan *Arnold Steam Sterilizen* atau dandang).

c) Nyalakan sumber panas dan tunggu hingga termometer menunjukkan suhu 1000C kemudian hitung waktu mundur hingga 30 menit (uap panas yang terbentuk akan mematikan mikroba).
d) Setelah selesai alat sterilisasi dimatikan dan bahan yang steril dikeluarkan.
e) Setelah 24 jam, bahan tersebut di sterilkan lagi dengan cara yang sama, sedang waktu ini dimaksudkan untuk memberi kesempatan spora atau sel vegetatif yang belum mati untuk tumbuh sehingga mudah dibunuh.

Sterilisasi dengan udara panas (*Dry heat sterilization*)

Sterilisasi dengan metode ini biasanya digunakan untuk peralatan gelas seperti cawan petri, pipet ukur dan labu erlenmyer. Alat gelas yang disterilisasi dengan udara panas tidak akan timbul kondensasi sehingga tidak ada tetes air (embun) didalam alat gelas.

a. Bungkus alat-alat gelas dengan kertas payung atau aluminium foil
b. Atur pengatur suhu oven menjadi 1800C dan alat disterilkan selama 2-3 jam.

Prinsip kerja Biological Saferty Cabinet

Biological Safety Cabinet merupakan kabinet kerja yang sterilkan untuk kerja mikrobiologi. BSC memiliki suatu pengatur aliran udara yang menciptakan aliran udara kotor (dimungkinkan ada kontaminan) untuk disaring dan diresirkulasi melalui filter.

BSC juga disebut *biosafety hood*, dan juga dikenal dengan *Laminar flow hood* atau *Class II vertical flow cabinet* yang menyediakan alat filtrasi dan aliran udara yang bersirkulasi didalam ruang kerja. Aliran udara diatur untuk menghambat udara luar masuk dan udara di dalam keluar,

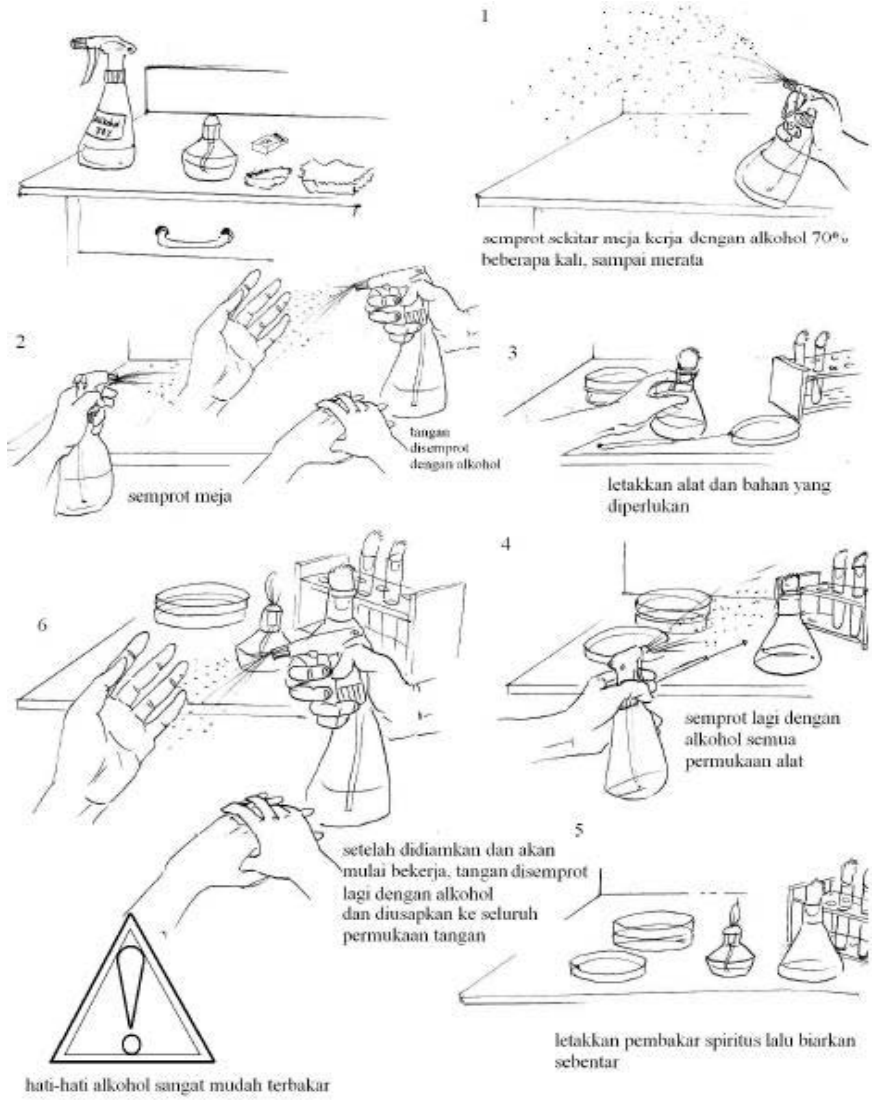
untuk mencegah kontaminasi dari luar dan pencemaran bakteri dari ruang BSC. Udara yang keluar disaring melewati penyaring sehingga sel-sel yang berbahaya tidak lepas keluar ke ruangan lain. Berbagai kelas Biological Safety Cabinet.

3) Teknik kerja aseptis

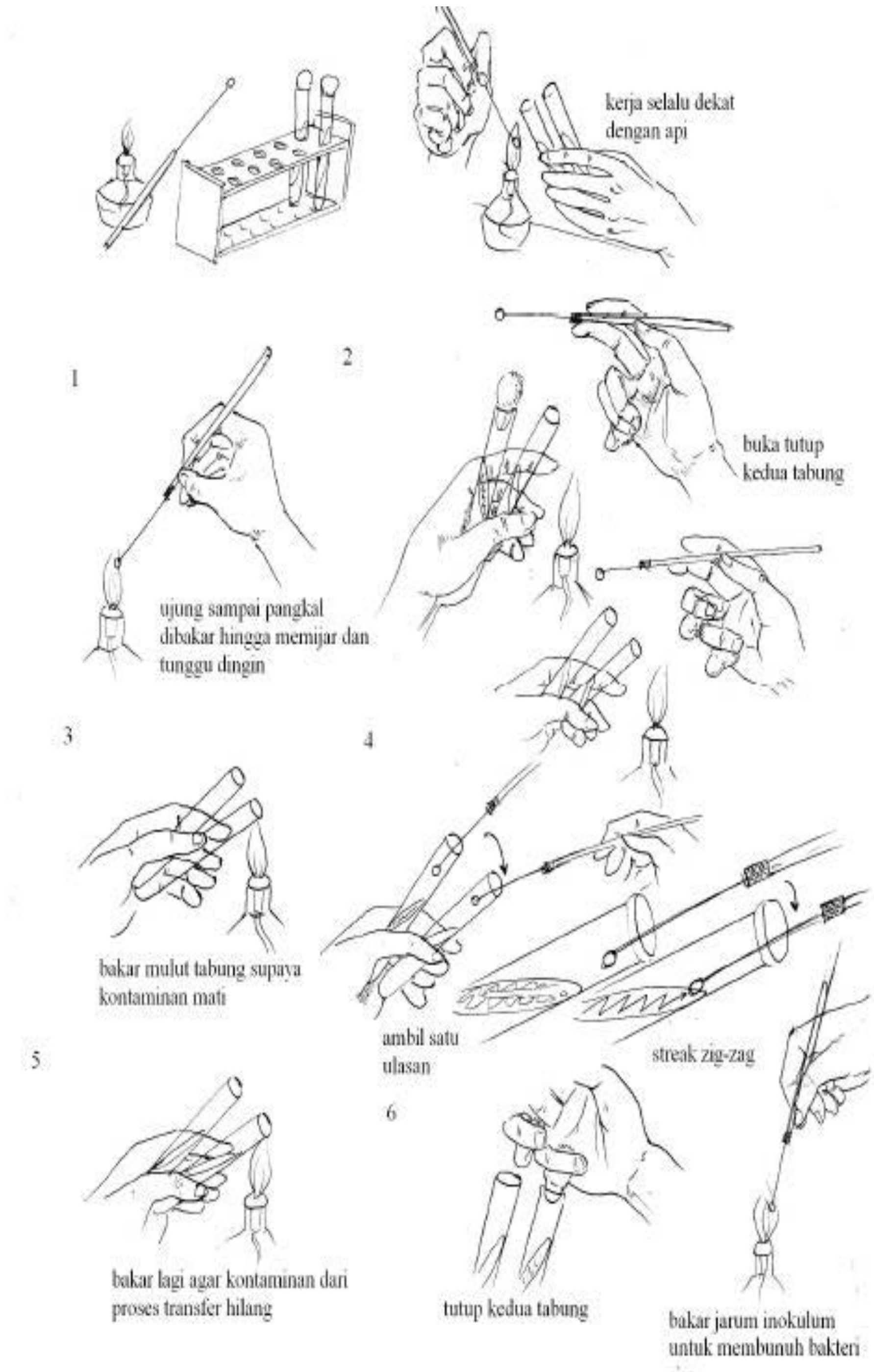
Kemampuan teknik seseorang bekerja secara aseptik selama pengambilan sampel maupun pengujian mikrobiologis di lapangan dan di laboratorium sangat untuk menjaga integritas sampel berikut sumbernya serta memperolah data hasil uji mikrobiologis yang akurat.

Peralatan laboratorium yang diperlukan untuk bekerja secara aseptik antara lain :

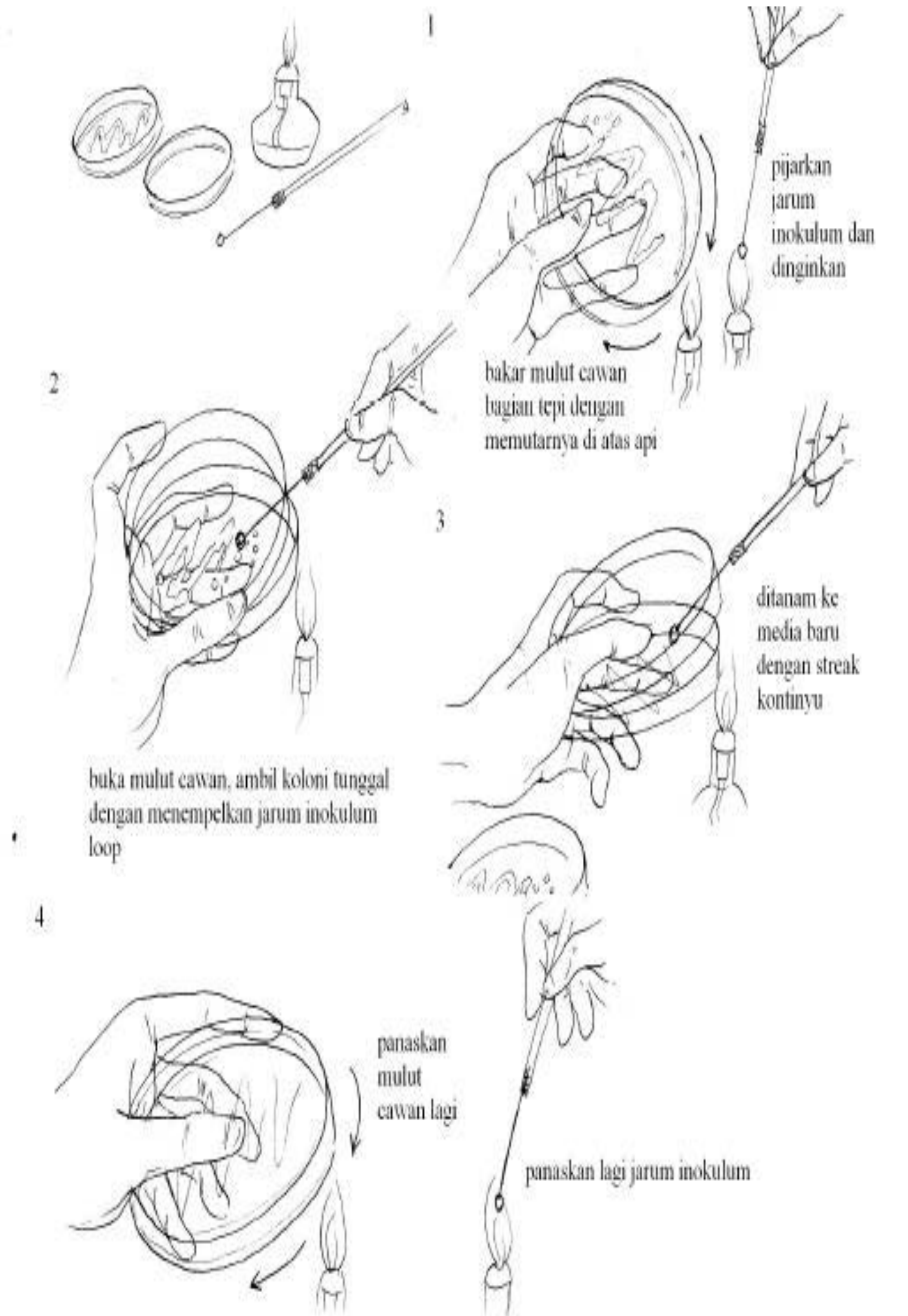
1) Wadah yang steril untuk digunakan sebagai tempat penyimpanan contoh
2) Perlengkapan sebagai pendukung agar tercapai kondisi steril seperti bunsen, pisau steril, wadah pengangkut berpendingin, refrigerator, freezer, es kering, tabung nitrogen cair, anaerobic jar, inkubator, penangas air, autoclaf, laminar flow, biohazard cabinets.
3) Peralatan untuk pemindahan sampel / media atau kultur cair antara lain medium cair steril, media padat steril siap pakai, media untuk kultur jaringan maupun media untuk sistem kultur kontinu.



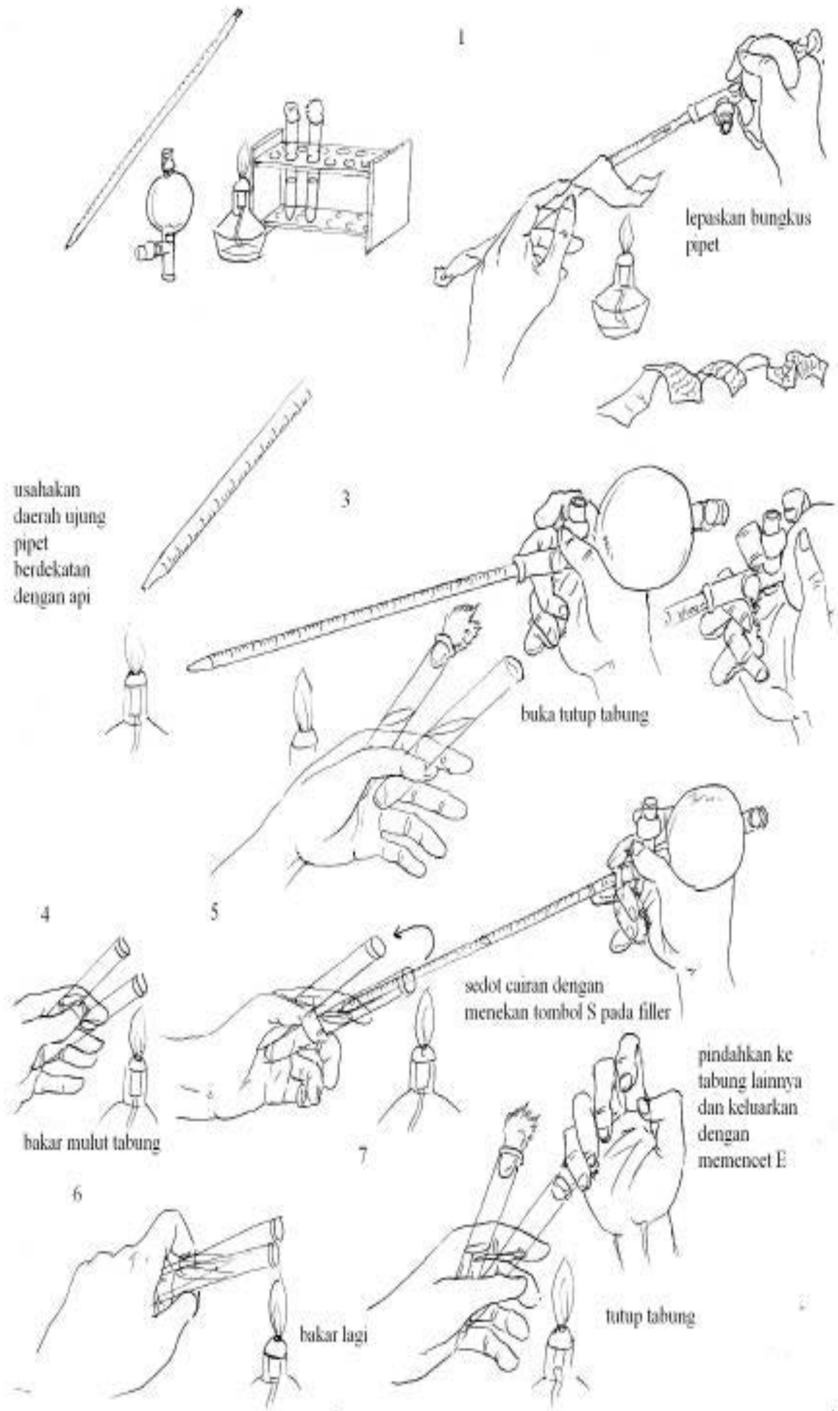
Gambar 38. Teknis kerja aseptis



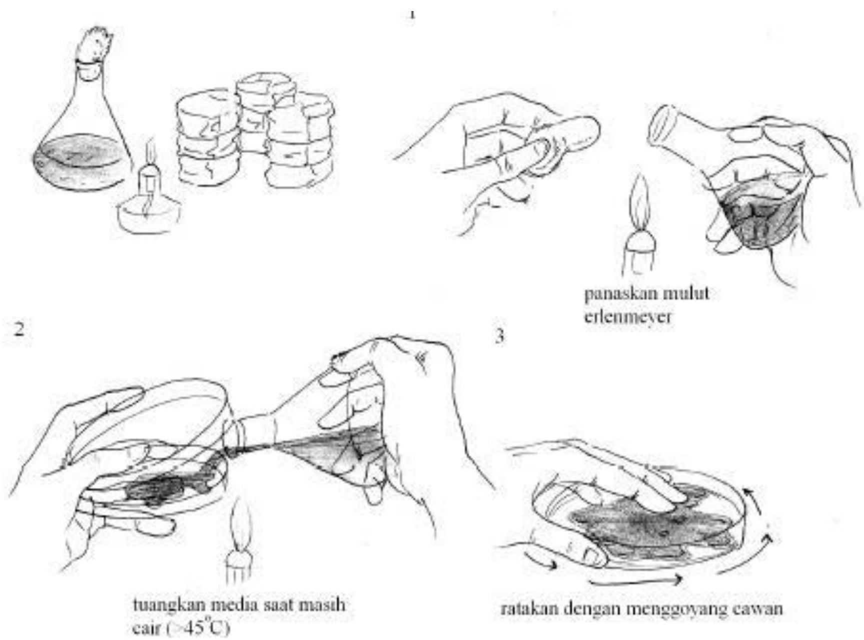
Gambar 39. Memindahkan biakan secara aseptis



Gambar 40. Memindahkan biakan dari cawan secara aseptis



Gambar 41. Memindahkan cairan dengan pipet secara aseptis



Gambar 42. Menuangkan ke media secara aseptis

Saran-saran kerja aseptis :

- Sebelum membuka ruangan atau bagian steril di dalam tabung/cawan/erlenmeyer sebaiknya bagian mulut (bagian yang memungkinkan kontaminan masuk) dibakar/dilewatkan api terlebih dahulu.
- Pinset, batang L, dll dapat disemprot dengan alkohol terlebih dahulu lalu dibakar.
- Ujung jarum inokulum yang sudah dipijarkan harus ditunggu dingin dahulu atau dapat ditempelkan tutup cawan bagian dalam untuk mempercepat transfer panas yang terjadi.
- Usahakan bagian alat yang diharapkan dalam kondisi steril didekatkan ke bagian api.
- Jika kerja di *Safety Cabinet* tidak perlu memakai pembakar bunsen tetapi jika di luar Safety Cabinet maka semakin banyak sumber api maka semakin terjamin kondisi aseptisnya

4) Isolasi mikroba

Di alam populasi mikroba tidak terpisah sendiri menurut jenisnya, tetapi terdiri dari campuran berbagai macam sel. Di dalam laboratorium populasi bakteri inidapat diisolasi menjadi kultur murni yang terdiri dari satu jenis yang dapat dipelajari morfologi, sifat dan kemampuan biokimiawinya.

1. **Teknik Pengambilan Sampel**

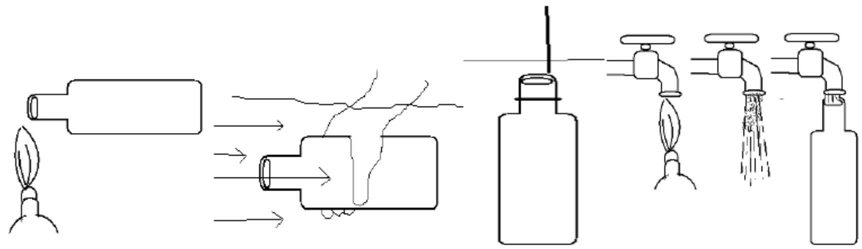
   Sebelum melakukan isolasi terlebih dahulu dilakukan pengambilan sampel. Berikut merupakan prosedur pengambilan sampel.

   a. **Sampel tanah**

      Jika mikroorganisme yang diinginkan kemungkinan berada di dalam tanah, maka cara pengambilannya disesuaikan dengan tujuan dan kebutuhan. Misal jika yang diinginkan mikroorganisma rhizosfer maka sampel diambil dari sekitar perakaran dekat permukaan hingga ujung perakaran.

   b. **Sampel air**

      Pengambilan sampel air bergantung kepada keadaan air itu sendiri. Jika beerasal dari air sungai yang mengalir maka botol dicelupkan miring dengan bibir botol melawan arus air. Bila pengambilan sampel dilakukan pada air yang tenang, botol dapat dicelupkan dengan tali, jika ingin mengambil sampel dari air keran maka sebelumya keran dialirkan dulu beberapa saat dan mulut kran dibakar.



Gambar 43. Pengambilan sampel

(gz208pdg.blogspot.com)

2. **Isolasi Dengan Cara Pengenceran (*Dilution*)**

Teknik Preparasi Suspensi

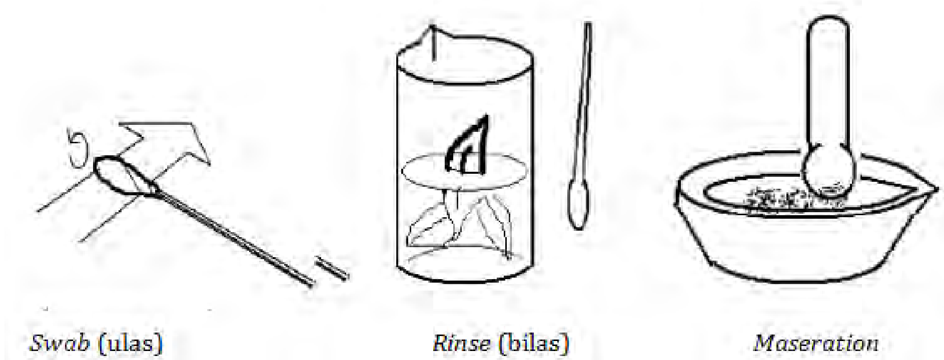
Sampel yang telah diambil kemudian disuspensikan dalam akuades steril. Tujuan dari teknik ini pada prinsipnya adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Macam-macam preparsi bergantung kepada bentuk sampel :

a. *Swab* (ulas), dilakukan menggunakan *cotton bud* steril pada sampel yang memiliki permukaan luas dan pada umumnya sulit dipindahkan atau sesuatu pada benda tersebut. Contohnya adalah meja, batu, batang kayu dll. Caranya dengan mengusapkan *cotton bud* memutar sehingga seluruh permukaan kapas dari *cotton bud* kontak dengan permukaan sampel. Swab akan lebih baik jika cotton bud dicelupkan terlebih dahulu ke dalam larutan atraktan semisal *pepton water*.

b. *Rinse* (bilas) ditujukan untuk melarutkan sel-sel mikroba yang menempel pada permukaan substrat yang luas tapi relatif berukuran kecil, misalnya daun bunga dll. Rinse merupakan prosedur kerja dengan mencelupkan sampel ke dalam akuades dengan perbandingan 1 : 9 (w/v). Contohnya sampel daun diambil

dan ditimbang 5 g kemudian dibilas dengan akuades 45 ml yang terdapat dalam *beaker glass*.

c. *Maseration* (pengancuran), sampel yang berbentuk padat dapat ditumbuk dengan mortar dan pestle sehingga mikroba yang ada dipermukaan atau di dalam dapat terlepas kemudian dilarutkan ke dalam air. Contoh sampelnya antar alain bakso, biji, buah dll. Perbandingan antar berat sampel dengan pengenceran pertama adalah 1 : 9 (w/v). Unutk sampel dari tanh tak perlu dimaserasi



Teknik Pengenceran Bertingkat

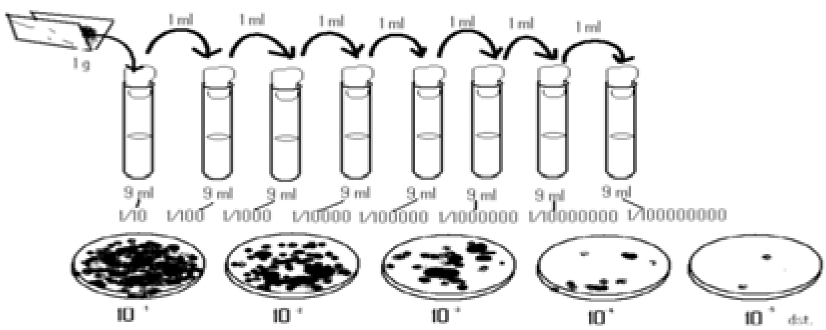
Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisma dari pengenceran sebelumnya.

Cara Kerja :

a. Sampel yang mengandung bakteri dimasukan ke dalam tabung pengenceran pertama (1/10 atau 10-1) secara aseptis (dari

preparasi suspensi). Perbandingan berat sampel dengan volume tabung pertama adalah 1 : 9 dan ingat akuades yang digunakan jika memakai teknik rinse dan swab sudah termasuk pengencer 10-1. Setelah sampel masuk lalu dilarutkan dengan mengocoknya (pengocokan yang benar dapat dilihat pada gambar disamping)

b. Diambil 1 ml dari tabung 10-1 dengan pipet ukur kemudian dipindahkan ke tabung 10-2 secara aseptis kemudian dikocok dengan membenturkan tabung ke telapak tangan sampai homogen. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama, hal yang perlu diingat bahwa pipet ukur yang digunakan harus selalu diganti, artinya setiap tingkat pengenceran digunakan pipet ukur steril yang berbeda/baru. Prinsipnya bahwa pipet tidak perlu diganti jika memindahkan cairan dari sumber yang sama.



Gambar 44. Pegenceran sampel bertingkat

(gz208pdg.blogspot.com)

5) Pembuatan media pertumbuhan mikroba

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekulmolekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Dengan media pertumbuhan dapat

dilakukan isolat mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya.

Bahan-bahan media pertumbuhan

Bahan dasar

- air (H2O) sebagai pelarut
- agar (dari rumput laut) yang berfungsi untuk pemadat media. Agar sulit didegradasi oleh mikroorganisme pada umumnya dan mencair pada suhu 45 oC.
- gelatin juga memiliki fungsi yang sama seperti agar. Gelatin adalah polimer asam amino yang diproduksi dari kolagen. Kekurangannnya adalah lebih banyak jenis mikroba yang mampu menguraikannya dibanding agar.
- *Silica gel*, yaitu bahan yang mengandung natrium silikat. Fungsinya juga sebagai pemadat media. Silica gel khusus digunakan untuk memadatkan media bagi mikroorganisme autotrof obligat.

Nutrisi atau zat makanan

Media harus mengandung unsur-unsur yang diperlukan untuk metabolisme sel yaitu berupa unsur makro seperti C, H, O, N, P; unsur mikro seperti Fe, Mg dan unsur pelikan/*trace element.*

- Sumber karbon dan energi yang dapat diperoleh berupa senyawa organik atau anorganik esuai dengan sifat mikrobanya. Jasad heterotrof memerlukan sumber karbon organik antara lain dari karbohidrat, lemak, protein dan asam organik.
- Sumber nitrogen mencakup asam amino, protein atau senyawa bernitrogen lain. Sejumlah mikroba dapat menggunakan sumber N anorganik seperti urea.
- Vitamin-vitamin.

Bahan tambahan

Bahan-bahan tambahan yaitu bahan yang ditambahkan ke medium dengan tujuan tertentu, misalnya *phenol red* (indikator asam basa) ditambahkan untuk indikator perubahan pH akibat produksi asam organik hasil metabolisme. Antibiotik ditambahkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba nontarget/ kontaminan.

1. Bahan yang sering digunakan dalam pembuatan media
   - Agar, agar dapat diperoleh dalam bentuk batangan, granula atau bubuk dan terbuat dari beberapa jenis rumput laut. Kegunaannya adalah sebagai pemadat (*gelling*) yang pertama kali digunakan oleh Fraw & Walther Hesse untuk membuat media. Jika dicampur dengan air dingin, agar tidak akan larut. Untuk melarutkannya harus diasuk dan dipanasi, pencairan dan pemadatan berkali-kali atau sterilisasi yang terlalu lama dapat menurunkan kekuatan agar, terutama pada pH yang asam
   - *Peptone*, *peptone* adalah produk hidrolisis protein hewani atau nabati seperti otot, liver, darah, susu, casein, lactalbumin, gelatin dan kedelai. Komposisinya tergantung pada bahan asalnya dan bagaimana cara memperolehnya.
   - *Meat extract*. *Meat extract* mengandung basa organik terbuat dari otak, limpa, plasenta dan daging sapi.
   - *Yeast extract*. *Yeast extract* terbuat dari ragi pengembang roti atau pembuat alcohol. Yeast extract mengandung asam amino yang lengkap & vitamin (B *complex*).
   - Karbohidrat. Karbohidrat ditambahkan untuk memperkaya pembentukan asam amino dan gas dari karbohidrat. Jenis karbohidrat yang umumnya digunkan dalam amilum, glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, manitol, dll. Konsentrasi yang ditambahkan untuk analisis fermentasi adalah 0,5-1%.

Macam-Macam Media Pertumbuhan

a) Medium berdasarkan sifat fisik

- Medium padat yaitu media yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat..
- Medium setengah padat yaitu media yang mengandung agar 0,3-0,4% sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat, tidak begitu cair. Media semi solid dibuat dengan tujuan supaya pertumbuhan mikroba dapat menyebar ke seluruh media tetapi tidak mengalami percampuran sempurna jika tergoyang. Misalnya bakteri yang tumbuh pada media NfB (*Nitrogen free Bromthymol Blue*) semisolid akan membentuk cincin hijau kebiruan di bawah permukaan media, jika media ini cair maka cincin ini dapat dengan mudah hancur. Semisolid juga bertujuan untuk mencegah/menekan difusi oksigen, misalnya pada media *Nitrate Broth*, kondisi anaerob atau sedikit oksigen meningkatkan metabolisme nitrat tetapi bakteri ini juga diharuskan tumbuh merata diseluruh media.
- Medium cair yaitu media yang tidak mengandung agar, contohnya adalah NB (*Nutrient Broth*), LB (*Lactose Broth*).

b) Medium berdasarkan komposisi

- Medium sintesis yaitu media yang komposisi zat kimianya diketahui jenis dan takarannya secara pasti, misalnya *Glucose Agar, Mac Conkey Agar*.
- Medium semi sintesis yaitu media yang sebagian komposisinya diketahui secara pasti, misanya PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung agar, dekstrosa dan ekstrak kentang. Untuk bahan ekstrak kentang, kita tidak

dapat mengetahui secara detail tentang komposisi senyawa penyusunnya.

- Medium non sintesis yaitu media yang dibuat dengan komposisi yang tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya, misalnya *Tomato Juice Agar,* Brain Heart Infusion Agar, *Pancreatic Extract*.

c) Medium berdasarkan tujuan

- Media untuk isolasi. Media ini mengandung semua senyawa esensial untuk pertumbuhan mikroba, misalnya *Nutrient Broth, Blood Agar*.
- Media selektif/penghambat. Media yang selain mengandung nutrisi juga ditambah suatu zat tertentu sehingga media tersebut dapat menekan pertumbuhan mikroba lain dan merangsang pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Contohnya adalah Luria Bertani medium yang ditambah Amphisilin untuk merangsang E*.coli* resisten antibotik dan menghambat kontaminan yang peka, *Ampiciline*. *Salt broth* yang ditambah NaCl 4% untuk membunuh *Streptococcus agalactiae* yang toleran terhadap garam.
- Media diperkaya (*enrichment*) Media diperkaya adalah media yang mengandung komponen dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambah komponen kompleks seperti darah, serum, kuning telur. Media diperkaya juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media ini tidak hanya membutuhkan nutrisi sederhana untuk berkembang biak, tetapi membutuhkan komponen

kompleks, misalnya *Blood Tellurite Agar, Bile Agar, Serum Agar*, dll

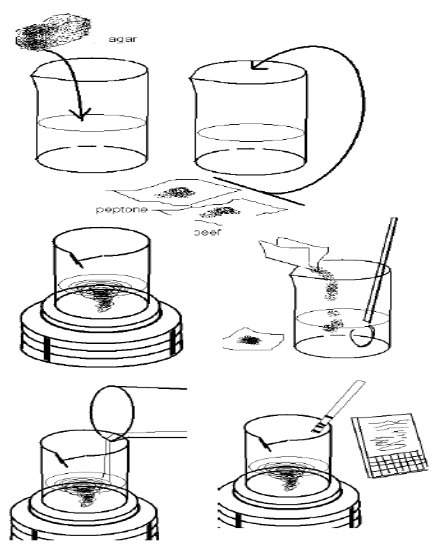
- Media untuk peremajaan kultur . Media umum atau spesifik yang digunakan untuk peremajaan kultur. Media untuk menentukan kebutuhan nutrisi spesifik. Media ini digunakan unutk mendiagnosis atau menganalisis metabolisme suatu mikroba. Contohnya adalah *Koser's Citrate medium,* yang digunakan untuk menguji kemampuan menggunakan asam sitrat sebagai sumber karbon.
- Media untuk karakterisasi bakteri Media yang digunakan untuk mengetahui kemempuan spesifik suatu mikroba. Kadang-kadang indikator ditambahkan untuk menunjukkan adanya perubahan kimia. Contohnya adalah *Nitrate Broth, Lactose Broth, Arginine Agar*.
- Media diferensial Media ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba dari campurannya berdasar karakter spesifik yang ditunjukkan pada media diferensial, misalnya TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) yang mampu memilih Enterobacteria berdasarkan bentuk, warna, ukuran koloni dan perubahan warna media di sekeliling koloni..

Pembuatan Nutrient Agar dan Nutrient Broth

- Pembuatan *Nutrient Agar*
- Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:
  - *Beef extract* 3 g
  - *Peptone* 5 g
  - Agar 15 g

- Akuades s.d 1000 ml

- Akuades sebanyak 100 ml dibagi menjadi dua satu bagian untuk melarutkan *Beef extract* dan *peptone* dan sebagian lagi untuk melarutkan agar. Sebaiknya air untuk melarutkan agar lebih banyak
- Larutkan agar pada sebagian air tersebut dengan mengaduk secara konstan dan diberi panas. Dapat menggunakan kompor gas atau *hot plate stirrer* (jangan sampai *overheat*, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah).
- Sementara itu sebagian akuades digunakan untuk melarutkan *peptone* dan *beef extract*, cukup dengan pengadukan.
- Setelah keduanya larut, larutan dituangkan ke larutan agar dan diaduk sampai homogen. Kemudian pH media diukur dengan mencelupkan kertas pH indikator. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
- Setelah itu media dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan disterilisasi dengan autoklaf.
- Tuang media steril ke cawan petri steril secara aseptis. Jika diinginkan media tegak atau miring pada point ke 5, media langsung dituang ke tabung kemudian disterilisasi.



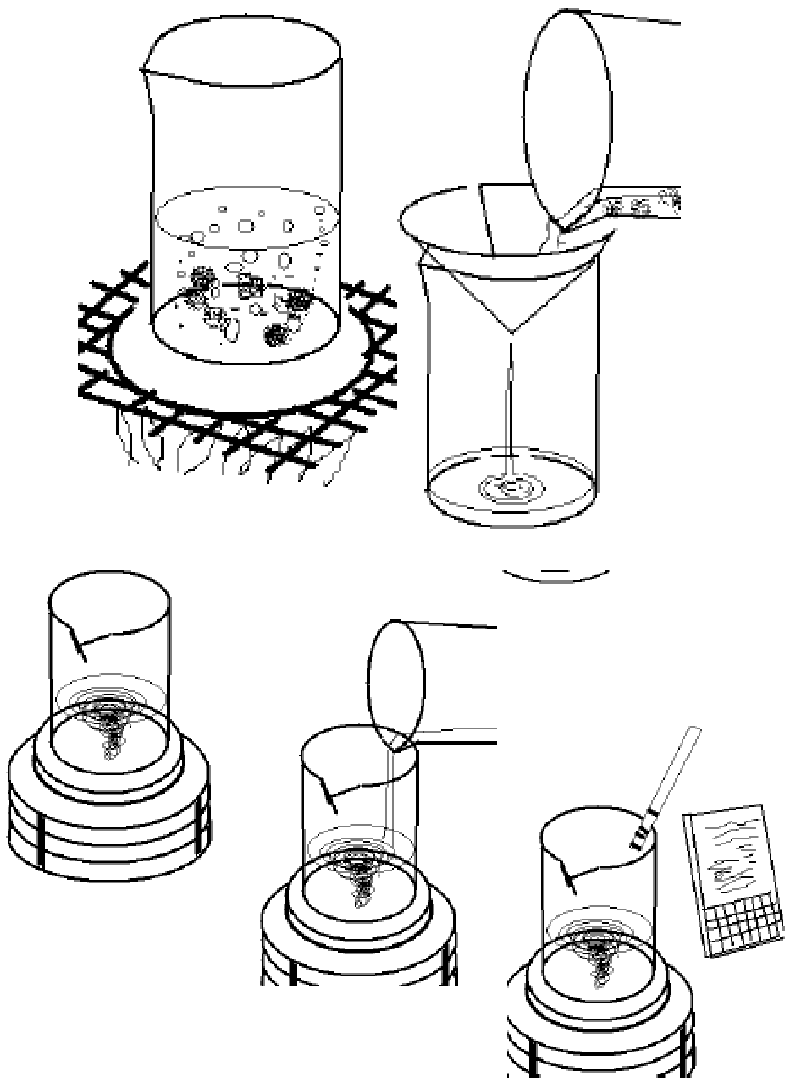
Gambar 45. Pembuatan media *Nutrient Agar*

Pembuatan *Nutrient Broth*

Komposisi untuk media NB sama dengan NA tetapi tidak memakai agar sebagai pemadat. Proses pembuatannyapun lebih sederhana, tinggal melarutkan *peptone* dan *beef extract* kemudian ditampung dalam labu Erlenmeyer atau tabung reaksi dan siap disterilisasi. Proses pembuatan ini tidak memerlukan panas, *peptone* dan *beef extract* akan mudah larut sempurna pada air suhu kamar jika diaduk

Pembuatan *Potato Dextrose Agar* (PDA)

- Timbang komponen media dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:
    - Potato/kentang 3 g
    - *Peptone* 5 g
    - Agar 15 g
    - Akuades s.d 1000 ml
- (sebelum ditimbang, sebaiknya kentang dikupas dan diiris kecil-kecil)
- Rebus kentang dalam sebagian akuades tadi selama 1-3 jam sampai lunak, kemudian diambil ekstraknya dengan menyaring dan memerasnya menggunakan kertas saring lalu ditampung di *Beaker glass* baru.
- Agar dilarutkan dengan *Hot Plate Stirrer* dalam 50 ml akuades lalu setelah larut dapat ditambahkan dekstrosa dan dihomogenkan lagi.
- Setelah semua larut, ekstrak kentang dan agar-dekstrosa dicampur dan dihomogenkan. Atur pH media menjadi 5-6 dengan meneteskan HCl/NaOH.
- Media dituang ke dalam Erlenmeyer atau ke tabung reaksi kemudian siap untuk disterilisasi.



Gambar 46. Pembuatan media PDA

Untuk tumbuh dan berkembang, mikroba membutuhkan suplai nutrisi yang memadai dan lingkungan pertumbuhan yang sesuai. Di laboratorium, suplai nutrisi diberikan dalam bentuk media kultur yang mengandung senyawa sederhana. Media kultur dapat berbentuk cair, semi padat, dan padat. Media kultur berwujud cair tidak mengandung agar sebagai pengental dan biasa disebut medium kaldu (*broth medium*). Penambahan agar menjadikan medium berbentuk

semi padat dan padat. Agar merupakan ekstrak rumput laut, yaitu karbohidrat yang didominasi oleh galaktosa dan tidak mengandung nutrisi. Media padat telah membutuhkan 1.5-1.8 % agar, sedangkan media semi padat membutuhkan < 1% agar. Agar berperan sebagai agen pengental yang baik. Agar mencair pada suhu 100oC dan mengental pada suhu 40 oC. Karena sifat ini, organisme dapat dikultur pada suhu 37.5 oC atau sedikit lebih tinggi tanpa khawatir mediumnya mencair.

Media padat dapat disimpan dalam tabung reaksi, yang diikuti dengan pendinginan dan pengerasan sehingga membentuk agar miring (*agar slants*) (Gambar 46). Media ini digunakan untuk memelihara biakan murni untuk tujuan sub culturing. Dengan cara yang sama, pada saat membeku tidak dibuat miring tetapi tegak sehingga menghasilkan *agar deep tubes* (Gambar 47). Agar ini digunakan terutama untuk mempelajari kebutuhan mikroba akan gas. Agar dalam tabung reaksi dapat dicairkan dalam water bath mendidih dan dituangkan ke cawan petri sehingga menghasilkan lempengan agar (*agar plate*) (Gambar 48). Agar ini memiliki permukaan lebih luas untuk isolasi dan mempelajari mikroba.



Gambar 47. Agar miring pada tabung reaksi



Gambar 48. Deep tube dan Lempengan agar cawan petri

Fungsi Media

Media merupakan tempat yang baik untuk tumbuhnya mikroba, karena media memiliki nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang. Media ada yang bersifat umum dan ada yang khusus. Media yang bersifat khusus untuk membantu mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba spesifik. Untuk tujuan khusus, media dapat dibagi menjadi (a) selektif; (b) diferensial, (c) enrichment, dan (d) kombinasi media selektif dan diferensial.

a. Media Selektif

Media selektif dibuat dengan penambahan senyawa kimia yang dapat menghambat satu kelompok mikroba yang lain namun memacu pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Contoh berikutnya dari Eropa adalah Columbia CNA. Agar yang mengandung antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan gram negatif, namun tidak terhadap bakteri gram positif

b. Media Differensi

Media differensi mengandung bahan tambahan yang dapat menyebabkan perubahan warna media apabila terjadi reaksi kimia tertentu. Media ini digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan karakteristik biokimia. Perubahan warna dalam koloni disebabkan oleh fermentasi bak teri terhadap laktosa, dimana bila tidak berwarna menunjukan adanya enzim laktosa non fermenter.

c. Media Diperkaya

Media diperkaya mengandung aditif yang menghambat pertumbuhan dan membantu meningkatkan pertumbuhan organisme tertentu

d. Kombinasi media selektif dan differrencial

Kombinasi media selektif dan differensia memungkinkan menghambat pertumbuhan mikroba yang satu dengan pertumbuhan lainnya

f. Teknik Penanaman

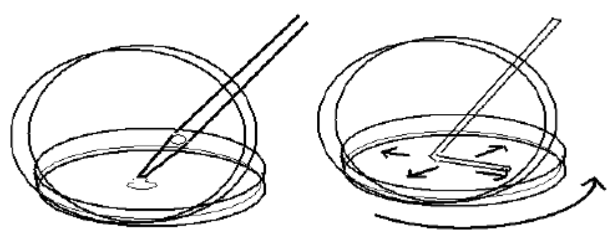
Teknik penanaman dari suspensi

Teknik penanaman ini merupakan lajutan dari pengenceran bertingkat. Pengambilan suspensi dapat diambil dari pengenceran mana saja tapi biasanya untuk tujuan isolasi (mendapatkan koloni tunggal) diambil beberapa tabung pengenceran terakhir.

1) *Spread Plate* (agar tabur ulas)

Spread plate adalah teknik menanam dengan menyebarkan suspensi bakteri di permukaan agar diperoleh kultur murni. Adapun prosedur kerja yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut :

- Ambil suspensi cairan senamyak 0,1 ml dengan pipet ukur kemudian teteskan diatas permukaan agar yang telah memadat.
- Batang L atau batang drugal diambil kemudian disemprot alkohol dan dibakar diatas bunsen beberapa saat, kemudian didinginkan dan ditunggu beberapa detik.
- Kemudian disebarkan dengan menggosokannya pada permukaan agar supaya tetesan suspensi merata, penyebaran akan lebih efektif bila cawan ikut diputar.
- Hal yang perlu diingat bahwa batang L yang terlalu panas dapat menyebabkan sel-sel mikroorganisme dapat mati karena panas.



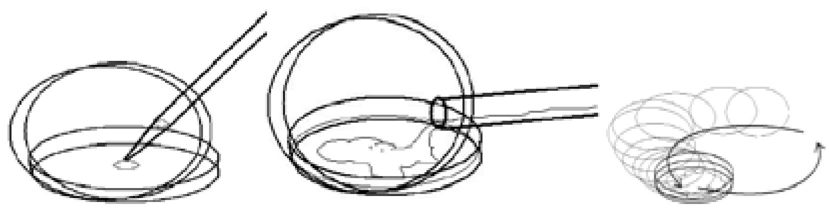
Gambar 49. ***Spread Plate (agar tabur ulas)***

2) *Pour Plate* (agar tuang)

Teknik ini memerlukan agar yang belum padat (>45oC) untuk dituang bersama suspensi bakteri ke dalam cawan petri lalu kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Hal ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan agar saja melainkan sel terendam agar (di dalam agar) sehingga terdapat sel yang tumbuh dipermukaan agar yang kaya O2 dan ada yang tumbuh di dalam agar

yang tidak banyak begitu banyak mengandung oksigen. Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- Siapkan cawan steril, tabung pengenceran yang akan ditanam dan media padat yang masih cair (>45oC)
- Teteskan 1 ml secara aseptis.suspensi sel kedalam cawan kosong
- Tuangkan media yang masih cair ke cawan kemudian putar cawan untuk menghomogenkan suspensi bakteri dan media, kemudian diinkubasi.



Gambar 50. *Pour Plate* (agar tuang)

Alasan diteteskannya bakteri sebanyak 0,1 ml untuk spread plate dan 1 ml untuk pour plate karena spread plate ditujukan untuk menumbuhkan dipermukaanya saja, sedangkan *pour plate* membutuhkan ruang yang lebih luas untuk penyebarannya sehingga diberikan lebih banyak dari pada *spread plate*.

3) Teknik Penanaman dengan Goresan (*Streak*)

Bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam medium baru. Metode *streak-plate* (lempeng gores) adalah teknik menumbuhkan mikroba di dalam media agar dengan cara menggores (*streak*) permukaan agar dengan jarum ose yang telah diinokulasikan dengan kultur mikroba. Dengan teknik ini mikroba yang tumbuh akan tampak dalam jalur goresan bekas dari streak jarum ose. Teknik isolasi mikroba ini dapat dianggap cepat secara kualitatif. Ini merupakan teknik pengenceran penting yang

melibatkan penyebaran satu ose kultur ke permukaan lempengan agar. Ada beberapa cara untuk menggoreskan mikroba ke media agar, diantaranya adalah penggoresan *four way* atau *quadrant streak*. Adapun cara kerja metode lempeng gores adalah sebagai berikut :

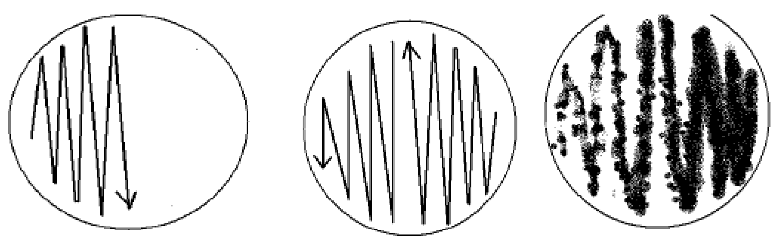
1. Tuang media agar cair ke dalam cawan petri, lalu biarkan hingga mengeras.
2. Bagi tiga bidang permukaan atas cawan petri yang akan digores dengan spidol atau lainnya.
3. Bakar jarum ose dari bagian pangkal dalam terus hingga ke bagian lup (ujung) sampai berpijar merah.
4. Panaskan bibir tabung reaksi yang berisi kultur mikroba dengan cara memutar tabung sehingga semua bagian bibir tabung terkena api.
5. Segera masukkan jarum ose ke dalam tabung reaksi untuk mengambil mikroba, lalu segera keluarkan. Usahakan ketika memasukkan jarum ose jangan sampai menyentuh dinding tabung dan selalu dilakukan dekat pembakar bunsen.
6. Goreskan ke atas permukaan agar dalam cawan petri secara perlahan-lahan. Usahakan jangan sampai agar hancur atau tergores.
7. Letakkan ose yang telah berisi mikroba di atas permukaan agar pada daerah 1 hingga mikrobanya menempel pada permukaan agar.
8. Ose dibakar hingga berpijar dan dinginkan. Letakkan ose pada lempengan agar dimana terdapat mikroba dan gosokan secara cepat beberapa kali ke permukaan daerah 1.
9. Bakar kembali ose hingga berpijar dan dinginkan. Putar cawan petri hingga membuat sudut 90o dengan daerah 1. Sentuhkan ose ke media kultur di daerah 1, dan gosokan beberapa kali ke media agar di daerah 2.

10. Bakar kembali ose dan dinginkan. Putar kembali cawan petri hingga membentuk sudut 90o dengan daerah 2. Ambil mikroba dari daerah 2 dan goreskan di daerah 3 dengan cara yang sama seperti di daerah 2
11. Tanpa membakar kembali ose, putar kembali cawan petri hingga membuat sudut 90o dengan daerah 3. Ambil mikroba dari daerah 3 dan goreskan ke daerah 4 dengan membentuk garis yang lebar.
12. Bungkus cawan petri dengan kertas coklat, inkubasi dalam inkubator dan amati koloni yang terbentuk.

a) Goresan Sinambung

Cara kerja :

- Sentuhkan inokulum loop pada koloni dan gores secara kontinyu sampai setengah permukaan agar.
- Jangan pijarkan loop, lalu putar cawan 180°C lanjutkan goresan sampai habis. Goresan sinambung umumnya digunakan bukan untuk mendapatkan koloni tunggal, melainkan untuk peremajaan ke cawan atau medium baru.



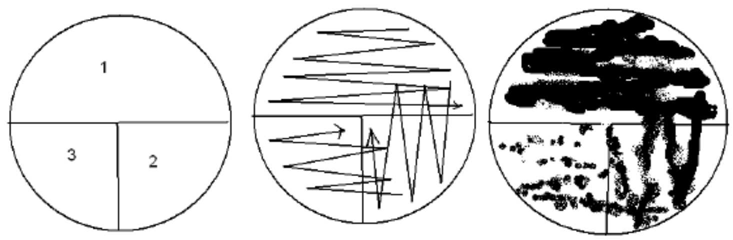
Gambar 51. Goresan Sinambung

b) Goresan T

Cara kerja :

- Bagi cawan menjadi 3 bagian menggunakan spidol marker
- Inokulasi daerah 1 dengan streak zig-zag

- Panaskan jarum inokulan dan tunggu dingin, kemudian lanjutkan streak zig-zag pada daerah 2 (*streak* pada gambar). Cawan diputar untuk memperoleh goresan yang sempurna
- Lakukan hal yang sama pada daerah 3

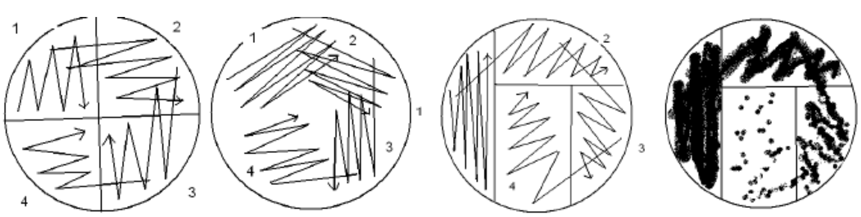


Gambar 52. Goresan T

c) Goresan Kuadran (*Streak quadrant*)

Cara kerja :

Hampir sama dengan goresan T, namun berpola goresan yang berbeda yaitu dibagi empat. Daerah 1 merupakan goresan awal sehingga masih mengandung banyak sel mikroorganisma. Goresan selanjutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal.

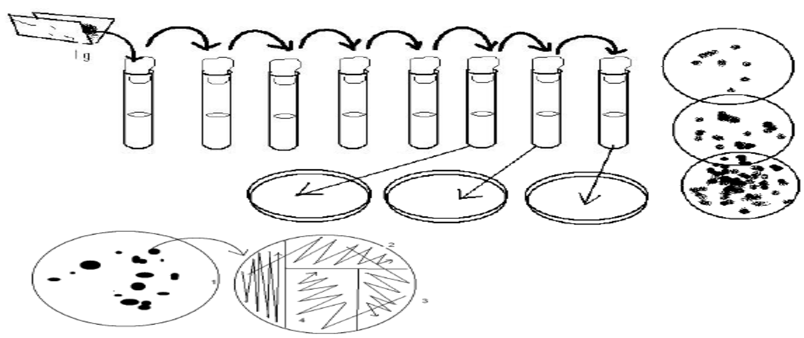


Gambar 53. Goresan Kuadran (*Streak quadrant*)

Cara Kerja Isolasi Bakteri dari Sampel Tanah :

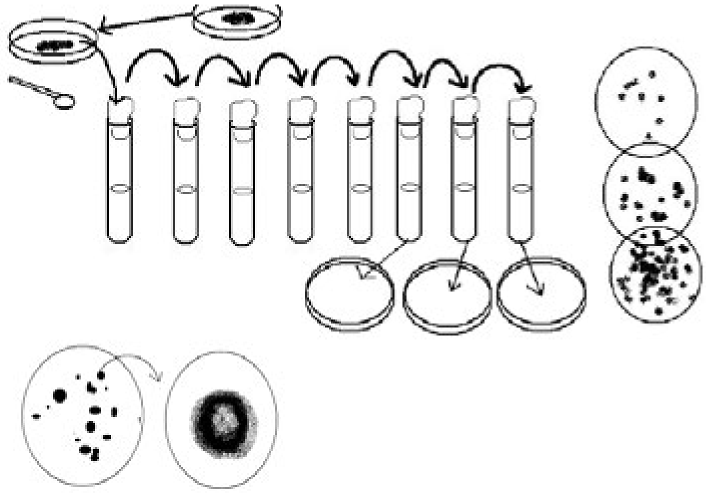
- Tanah seberat 1 g dimasukan ke dalam tabung pengenceran 10-1 secara aseptis dan selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10-8

- Tiga pengenceran terakhir diambil 0,1 ml untuk ditanam secara spread plate pada medium NA, setelah selesai, diinkubasi pada 37oC selama 1x24 jam
- Koloni akan tumbuh pada ketiga cawan tersebut kemudian dipilih koloni yang relatif terpisah dari koloni lain dan koloni yang mudah dikenali
- Koloni yang terpilih kemudian ditumbuhkan atau dimurnikan ke NA baru dengan teknik streak kuadran
- Inkubasi 1x24 jam.



Cara Kerja Isolasi Jamur dari Tanah :

- Tanah dalam cawan petri dipanaskan dengan oven pada suhu 80oC selama 30 menit dengan cawan petri untuk membunuh sel vegetatiftetap bertahan
- Tanah yang telah dioven diambil 1 g kemudian dimasukan ke dalam tabung pengenceran bertingkat
- Tiga pengenceran terakhir diambil untuk ditanama secara *spread plate* ke media PDA yang ditambah *streptomycin* atau *penicillin*. Kemudian diinkubnasi pada suhu ruang 5-7 hari
- Koloni jamur yang tumbuh dimurnikan dan ditanam pada medium PDA baru,
- Inkubasi pada suhu ruang 5-7 hari.



g. Morfologi Mikroba

1) Bakteri

a) Mengamati Morfologi Koloni Bakteri

Kegiatan ini merupakan tindakan pertama kali jika ingin mempelajari suatu jenis bakteri lebih lanjut, khususnya untuk tujuan identifikasi. Setelah mendapatkan kultur murni maka biakan yang diinginkan ditumbuhkan ke berbagai bentuk media untuk dikenali ciri koloninya.

Cara Kerja :

- Tumbuhkan biakan pada media NA cawan dengan streak kuadran
- Tumbuhkan biakan pada media NA miring dengan pola inokulasi yang tegak lurus
- Tumbuhkan biakan pada media NA tegak dengan *stab inoculation*
- Tumbuhkan biakan pada media NB

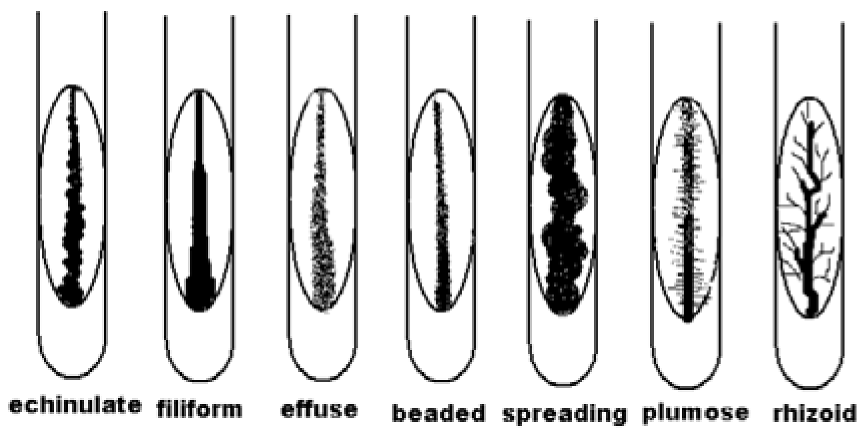
b) Pertumbuhan pada Cawan Petri

Ciri-ciri yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut :

c) Pertumbuhan pada Agar Miring

Ciri-ciri koloni diperoleh dengan menggoreskan jarum inokulum tegak dan lurus

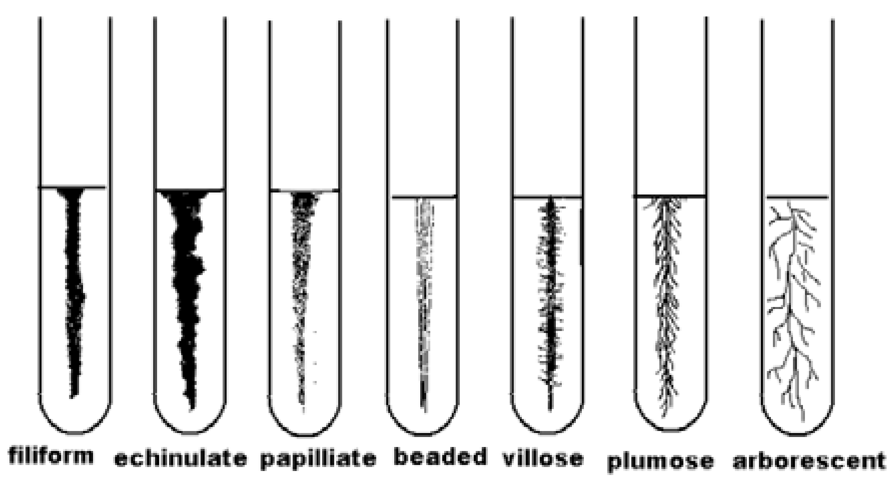
Ciri koloni berdasarkan bentuk:



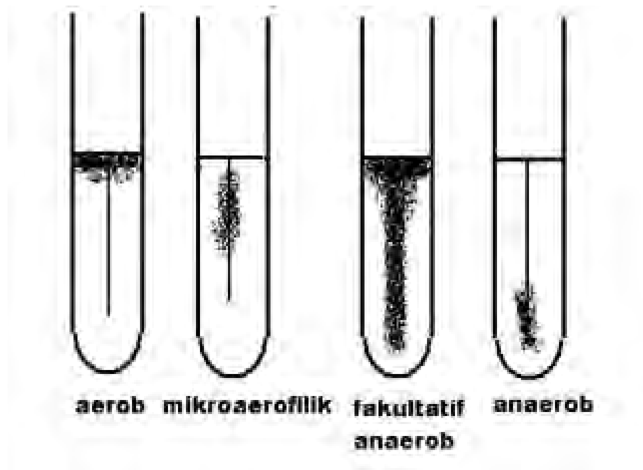
d) Pertumbuhan pada Agar Tegak

Cara penanaman adalah dengan menusukkan jarum inokulum *needle* ke dalam media agar tegak.

Ciri-ciri koloni berdasar bentuk :

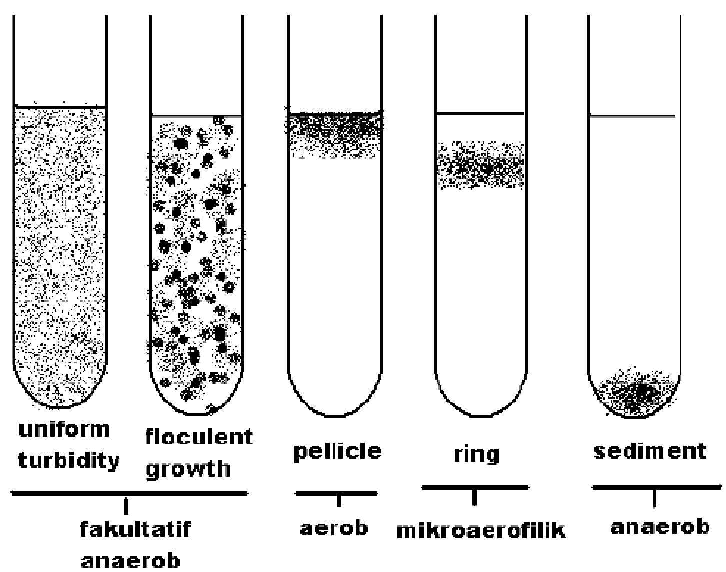


Ciri koloni berdasar kebutuhan O2 :



e) Pertumbuhan pada Media Cair

Pola pertumbuhan berdasarkan kebutuhan O2



f) Mengamati Morfologi Bakteri

Sel bakteri dapat teramati dengan jelas jika digunakan mikroskop dengan perbesaran 100x10 yang ditambah minyak imersi. Jika dibuat preparat ulas tanpa pewarnaan, sel bakteri sulit terlihat. Pewarnaan bertujuan untuk memperjelas sel bakteri dengan menempelkan zat warna ke permukaan sel bakteri. Zat warna dapat mengabsorbsi dan membiaskan cahaya, sehingga kontras sel bakteri dengan sekelilingnya ditingkatkan.

Zat warna yang digunakan bersifat asam atau basa. Pada zat warna basa, bagian yang berperan dalam memberikan warna disebut kromofor dan mempunyai muatan positif. Sebaliknya pada zat warna asam bagian yang berperan memberikan zat warna memiliki muatan negatif. Zat warna basa lebih banyak digunakan karena muatan negatif banyak banyak ditemukan pada permukaan sel. Contoh zat warna asam antara lain *Crystal Violet, Methylene Blue, Safranin, Base Fuchsin, Malachite Green* dll. Sedangkan zat warna basa antara lain *Eosin, Congo Red* dll.

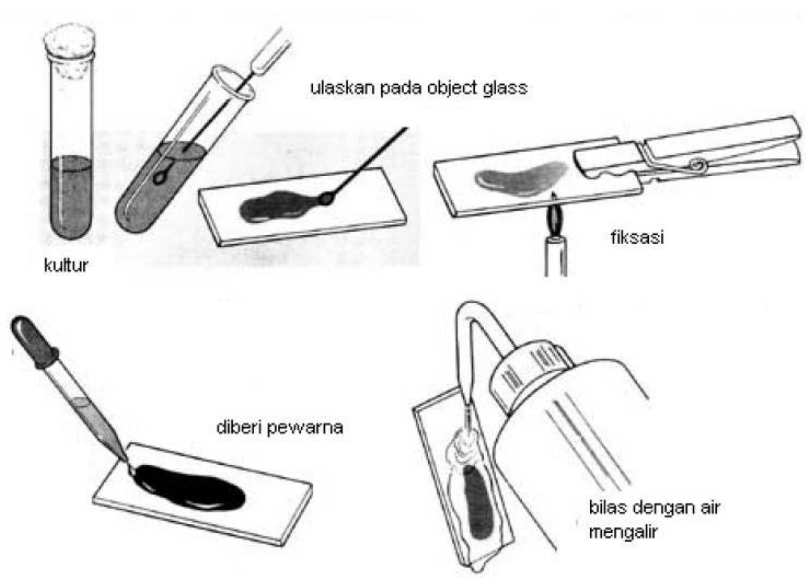
2) Pewarnaan

a) Pewarnaan Sederhana (Pewarnaan Positif)

Sebelum dilakukan pewarnaan dibuat ulasan bakteri di atas object glass yang kemudian difiksasi. Jangan menggunakan suspensi bakteri yang terlalu padat, tapi jika suspensi bakteri terlalu encer, maka akan diperoleh kesulitan saat mencari bakteri dengan mikroskop. Fiksasi bertujuan untuk mematikan bakteri dan melekatkan sel bakteri pada *object glass* tanpa merusak struktur selnya.

Cara Kerja :

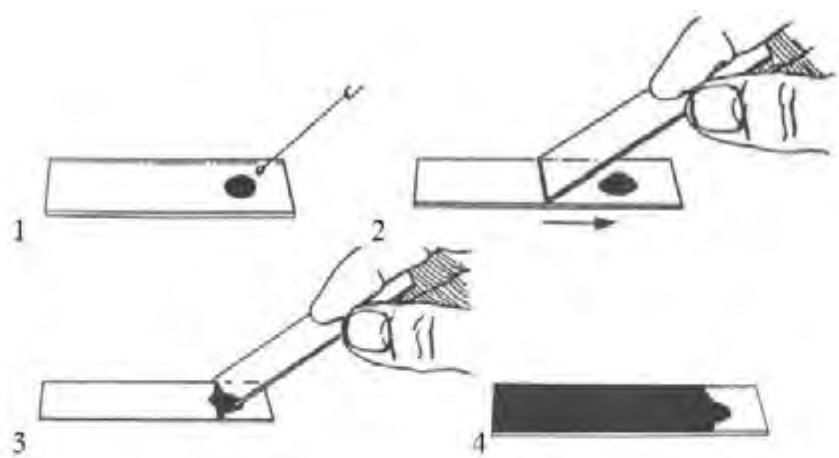
- Bersihkan *object glass* dengan kapas
- Jika perlu tulislah kode atau nama bakteri pada sudut *object glass*
- Bila menggunakan biakan cair maka pindahkan setetes biakan dengan pipet tetes atau dapat juga dipindahkan dengan jarum inokulum. Jangan lupa biakan dikocok terlebih dahulu. Jika digunakan biakan padat, maka biakan dipindahkan dengan jarum inokulum, satu ulasan saja kemudian diberi akuades dan disebarkan supaya sel merata.
- Keringkan ulasan tersebut sambil memfiksasinya dengan api bunsen (lewatkan di atas api 2-3 kali)
- Setelah benar-benar kering dan tersebar selanjutnya ditetesi dengan pewarna (dapat digunakan *Methylen blue*, *Safranin*, *Crystal Violet*) dan tunggu kurang lebih 30 detik.
- Cuci dengan akuades kemudian keringkan dengan kertas *tissue*
- Periksa dengan mikroskop (perbesaran 100 x 10).



b) Pewarnaan Negatif

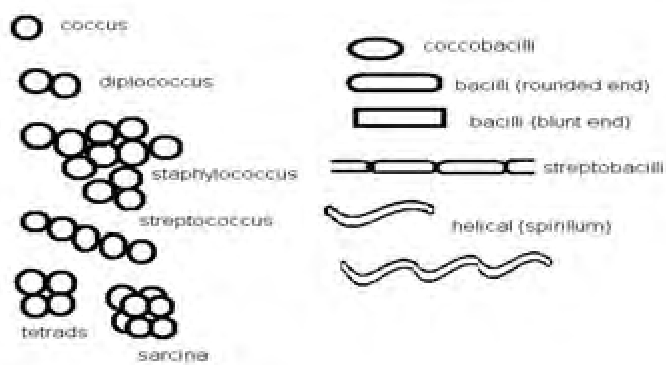
Beberapa bakteri sulit diwarnai dengan zat warna basa. Tapi mudah dilihat dengan pewarnaan negatif. Zat warna tidak akan mewarnai sel melainkan mewarnai lingkungan sekitarnya, sehingga sel tampak transparan dengan latar belakang hitam. Prosedur:

- Ambil dua object glass, teteskan nigrosin atau tinta cina di ujung kanan salah satu object glass
- Biakan diambil lalu diulaskan atau diteteskan dalam tetesan nigrosin tadi, lalu dicampurkan
- Tempelkan sisi object glass yang lain kemudian gesekkan ke samping kiri
- Biarkan preparat mengering di udara, jangan difiksasi atau dipanaskan di atas api.



Setelah dilihat di mikroskop, maka akan tampak bentuk sel bakteri. Berikut merupakan berbagai bentuk sel bakteri

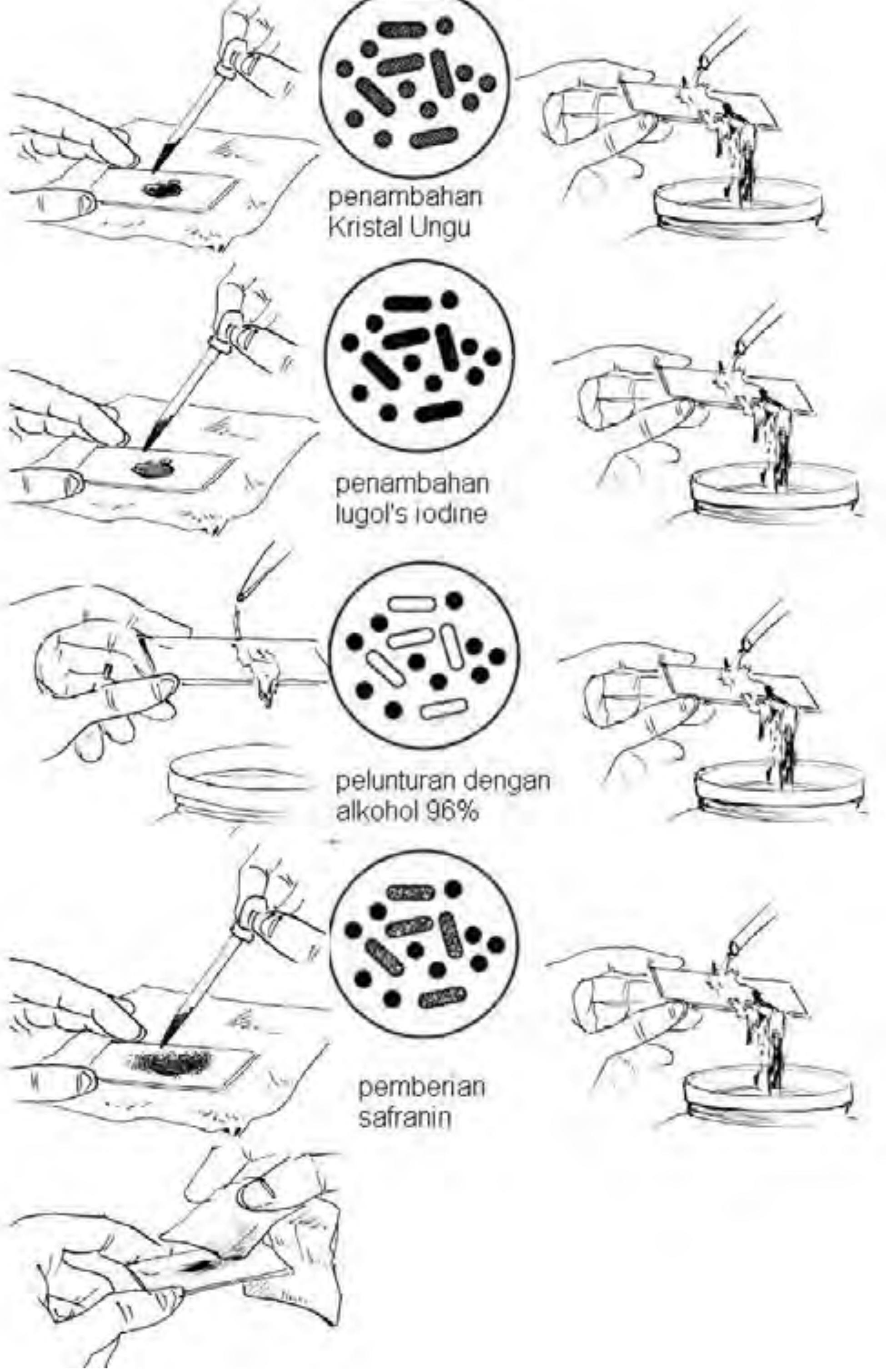
Bentuk	Contoh jenis
Coccus (*sphere*)	Neisseria, Veillonella, Enterococcus
Coccobacilli	Moraxella, Acinetobacter
Bacilli, (*rod*), *rounded ends*	Escherichia, Lactobacilus, clostridium
Vibrio (*curved*)	Vibrio, Bdellovibrio, Ancylobacter dll
Bacilli (*Rod*), *blunt end*	Bacillus
Helical (*spirillum*)	Spirochaeta, Spirillun, campylobacter
Diplococcus	Neisseria, Moraxela
Streptococcus	Streptococcus
Streptobacillus	Bacillus, Mycobacterium
Staphylococcus	Staphylococcus
Tetrad (*Gaffkya*)	Deinococci, pediococcus, micrococcus
Sarcina (*cuboid packets*)	Sarcina



c) Pewarnaan Gram

Adalah pewarnaan diferensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi, karena merupakan tahapan penting dalam langkah awal identifikasi. Pewarnaan ini didasarkan pada tebal atau tipisnya lapisan peptidoglikan di dinding sel dan banyak sedikitnya lapisan lemak pada membran sel bakteri. Jenis bakteri berdasarkan pewarnaan gram dibagi menjadi dua yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis. Sedangkan baktri gram negatif mempunyai dinding sel tipis yang berada di antara dua lapis membran sel.Berikut merupakan prosedur pewarnaan Gram:

Cara Kerja :	Dampak/Hasil
1.Buat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi dari bakteri gram positif misal *Bacillus subtilis* dan gram negatif misal *Escherichia coli*	Sel bakteri tertempel pada permukaan kaca (object glas)
2.Teteskan kristal violet sebagai pewarna utama pada kedua preparat , usahakan semua ulasan terwarnai dan tunggu selama ± 1 menit	Kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri gram positif dan negatif
3.Cuci dengan akuades mengalir	
4.Teteskan mordant (*lugol,s iodine*) lalu tunggu ± 1 menit	Adanya *lugol's iodine* menyebabkan adanya ikatan CV dengan *iodine* yang akan meningkatkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Pada gram positif dapat terbentuk CV iodin-ribonukleat pada dinding sel
5.Cuci dengan akuades mengalir	
6.Beri larutan pemucat (ethanol 96%/ aseton) setetes demi setetes hingga etanol yang jatuh berwarna jernih. Jangan sampai terlalu banyak (*overdecolorize*)	Penetesan etanol absolut menyebabkan terbentuknya pori-pori pada gram negatif yang memiliki banyak lapisn lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga komplek *CV-iodine* akan lepas dari permukaan sel gram negatif, sedangkan pada gram positif *CV-iodine* tetap menempel di dinding sel, sel gram negatif menjadi bening
7.Cuci dengan akuades mengalir	
8.Teteskan *counterstain* (safranin) dan tunggu selama ± 45 detik	Safranin akan mewarnai sel gram negatif menjadi berwarna merah, sedangkan gram positif tidak terpengaruh. *Counterstain* hanya berfungsi sebagai pengontras saja
9.Cuci dengan akuades mengalir	
10.Keringkan preparat dengan kertas tissue yang ditempelkan di sisi ulasan (jangan sampai merusak ulasan) lalu biarkan mengering di udara.	



penambahan
Kristal Ungu
penambahan
lugol's iodine
pelunturan dengan
alkohol 96%
pemberian
safranin

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pewarnaan gram adalah sbb:

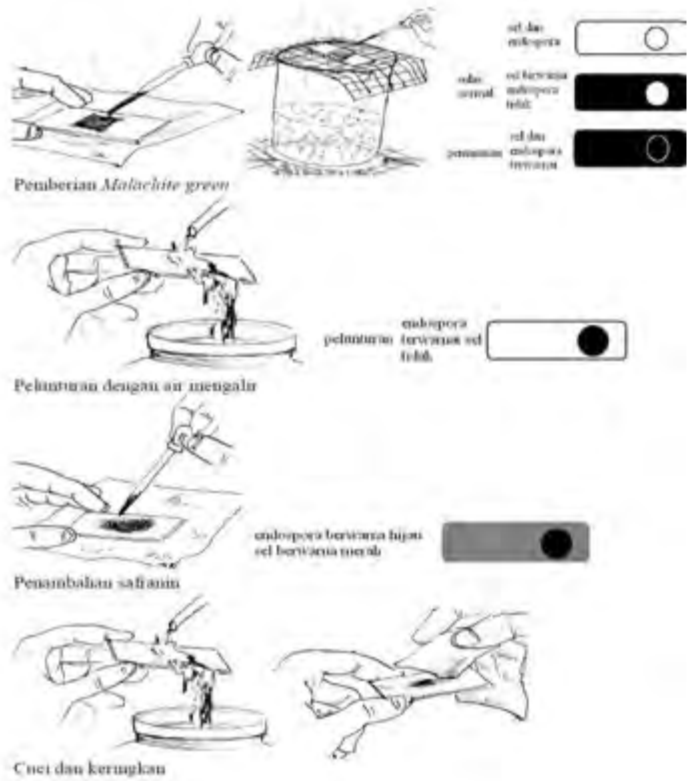
- Fase yang paling kritis dari prosedur di atas adalah tahap dekolorisasi yang mengakibatkan *CV-iodine* lepas dari sel. Pemberian ethanol jangan sampai berlebih yang akan menyebabkan *overdecolorization* sehingga sel gram positif tampak seperti gram negatif. Namun juga jangan sampai terlalu sedikit dalam penetesan etanol (*underdecolorization*) yang tidak akan melarutkan *CV-iodine* secara sempurna sehingga sel gram negatif seperti gram positif.
- Preparasi pewarnaan gram terbaik adalah menggunakan kultur muda yang tidak lebih lama dari 24 jam. Umur kultur akan berpengaruh pada kemampuan sel menyerap warna utama (CV), khususnya pada gram positif. Mungkin akan menampakkan gram variabel yaitu satu jenis sel, sebagian berwarna ungu dan sebagian merah karena pengaruh umur. Walaupun ada beberapa species yang memang bersifat gram variabel seperti pada genus Acinetobacter dan Arthrobacter.

d) Pewarnaan Endospora

Anggota dari genus Clostridium, Desulfomaculatum dan Bacillus adalah bakteri yang memproduksi endospora dalam siklus hidupnya. Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi dan bahan kimia. Tujuan dilakukannya pewarnaan endospora adalah membedakan endospora dengan sel vegetatif, sehingga pembedaannya tampak jelas. Endospora tetap dapat dilihat di bawah mikroskop meskipun tanpa pewarnaan dan tampak sebagai bulatan transparan dan sangat refraktil. Namun jika dengan pewarnaan sederhana, endospora sulit dibedakan dengan badan

inklusi (keduaduanya transparan, sel vegetatif berwarna), sehingga diperlukan teknik pewarnaan endospora. Berikut merupakan prosedur pewarnaan endospora dengan metode Schaeffer-Fulton.

Cara Kerja :	Dampak/Hasil
1.Buat preparat ulas dari *Bacillus subtilis* lalu tutup dengan kertas merang	Sel bakteri menempel pada permukaan *object glass*
2.Tetesi ulasan pada object glass dengan *Malachite green* di atas kertas merang. Letakan di atas air yang mendidih. Biarkan 5 menit. Dijaga jangan sampai kering. Jika bagian pinggir mulai mengering, tambahkan lagi *Malachite Green*.	*Malachite green* akan mewarnai sel vegetatif bakteri. Endospora sukar menyerap zat warna, sekali diberi zat warna, warna tersebut sulit dilunturkan. Untuk mewarnainya dilakukan pemanasan untuk mempermudah penetrasi *Malachite green* ke dinding endospora.
3.Setelah dingin, bilas *object glass* dengan akuades mengalir	Air digunakan sebagai agen dekolorasi sel. Setelah perlakuan di atas *Malachite green* tidak melekat kuat dengan sel vegetatif. Pembilasan dengan akuades akan melunturkan *Malachite green* pada sel vegetatif
4.Tetesi dengan safranin sebagai *counter stain*, diamkan selama $\pm$ 45 detik	Safranin akan mewarnai sel vegetatif menjadi merah, warna ini tidak mempengaruhi warna hijau endospora.
5.Cuci kering anginkan	



3) Motilitas bakteri

a) Pengamatan Langsung

Cara Kerja :

- Teteskan biakan bakteri motil seperti *Bacillus* atau E.*coli* ke *object glass* (sebaiknya dari biakan cair). Jika digunakan biakan padat maka ulas dengan jarum inokulum lalu ditambah akuades satu tetes, ratakan.
- Tutup dengan *cover glass*
- Amati menggunakan mikroskop dengan perbesaran maksimak. Bakteri akan tampak transparan dan pola pergerakannya tidak beraturan. Hati-hati jangan salah membedakan antara sel yang bergerak sendiri karena flagel atau bergerak terkena aliran air.

b) **Pengamatan tidak langsung**

Cara Kerja :

- Tanam biakan pada media NA tegak atau Media Motilitas dengan cara tusuk (*Stab inoculation*) sedalam + 5 mm.
- Inkubasi pada suhu 370 C selama 1x 24 jam
- Hasil positif (motil) jika bakteri tumbuh pada seluruh permukaan media, hasil negatif menunjukan bakteri hanya tumbuh pada daerah tusukan saja Bakteri motil akan bermigrasi ke seluruh permukaan agar dan bekas tusukan

Yeast/Khamir

1. Mengamati morfologi koloni *yeast*
   - Tanam biakan *yeast* (dapat berupa *Sacharomyces cereviceae* atau *Candida albicans*) pada PDA dengan cara *streak quadrant*.
   - Inkubasi selama 2x24 jam.
   - Setelah didapatkan koloni tunggal, pengamatan ciri-ciri morfologi koloni hampir sama dengan ciri morfologi bakteri
2. Mengamati Morfologi Sel *Yeast*

Yeast merupakan fungi mikroskopik uniseluler, tidak membentuk hifa (beberapa spesies dapat membentuk pseudohifa). Bentuk selnya bervariasi dapat berbentuk bulat, bulat telur, bulat memanjang dengan ukuran 1-9x20 µm. Beberapa spesies yeast memiliki sifat dimorfisme yaitu bentuk sel tunggal dan bentuk hifa atau pseudohifa. Pseudohifa adalah hifa yeast yang terbentuk dari rangkaian sel hasil pembelahan aseksual secara budding, tetapi tidak melepaskan diri dari induk. Morfologi internal sel mudah dilihat dan terdiri dari inti dan organel seperti mitkondria, grannula lemak dan glikogen.

Melihat bentuk sel *Yeast*

Cara Kerja :

- Tumbuhkan *Sacharomyces cereviceae* pada glukosa cair selama 24 jam.
- Ulaskan suspensi biakan pada object glass lalu teteskan *Methilene Blue* hingga rata (jangan difiksasi).
- Tutup preparat dengan *cover glass*.
- Amati dengan perbesaran 40x10 atau 100x10.

Melihat bentuk spora sel *Yeast*

Cara kerja :

- Buat preparat ulas dari biakan yeast pada Goodkowa Agar yang berumur 10 hari.
- Fiksasi dengan api bunsen.
- Warnai dengan cara Shager dan Fulgen yaitu: Tetesi preparat dengan *Malachite Green* dan biarkan 30-60 detik. Panasi preparat dengan api bunsen selama + 30 detik (sampai timbul uap). Cuci preparat dengan air mengalir. Keringkan dengan tissue kemudian biarkan pada udara terbuka. Amati di bawah mikroskop. Perhatikan spora yang berwarna

4) Kapang / Jamur

Jamur merupakan mikroba dengan struktur talus berupa benang-benang (*hifa*) yang terjalin seperti jala (*myselium*). Hifa dapat berekat (*septat*) dengan inti tunggal/ lebih dan hifa tidak bersekat (*aseptat*). Penampakan morfologi koloni pada umumnya seperti benang (*filamentous*) yang pertumbuhannya membentuk lingkaran. Morfologi koloninya dapat dengan mudah dibedakan dengan bakteri walaupun ada beberapa jenis bakteri yang koloninya mirip jamur, seperti dari

kelompok Actinomycetes atau *Bacillus mycoides.* Koloni kapang memiliki keragaman warna yang muncul dari sporanya.

Mengamati morfologi koloni kapang

Cara kerja :

a. Tanam/pindahkan biakan kapang dengan jarum inokulum *needle* yang diletakan di tenganh-tengah cawan petri.
b. Inkubasi selam beberapa hari.
c. Amati pertumbuhan koloni (miselium) yang menyebar.

Mengamati sel morfologi kapang dengan metode *Slide Culture* (*Microculture*)

Teknik ini bertujuan untuk mengamati sel kapang dengan menumbuhkan spora pada *object glass* yang ditetesi media pertumbuhan. Pengamatan struktur spora dan miselium dapat juga dilakukan dengan preparat ulas seperti yang telah diuraikan di depan. Namun seringkali miselium atau susunan spora menjadi pecah atau terputus sehingga penampakan di mikroskop dapat membingungkan. Dengan teknik ini, spora dan miselium tumbuh langsung pada *slide* sehingga dapat mengatasi masalah tersebut.

Metode Heinrich's, cara kerja :

a. Siapkan *object glass, cover glass, tissue* basah yang dimasukkan dalam cawan dan sterilkan dengan autoclave.
b. Setelah selesai sterilisasi berikan lilin (*parafin-petrolatum*) steril pada sebelah kiri dan kanan tempat yang akan ditutup *cover glass* (aseptis).
c. Tutup dengan *cover glass.*

d. Teteskan suspensi spora jamur dalam media cair pada media *cover glass* yang tidak diberi lilin. Berikan sampai setengah luasan cover glass. Tekan *cover mgalss* secara media merata.
e. Inkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam.
f. Ambil preparat dan amati di bawah mikroskop.

Metode Riddel, cara kerja :

a. Persiapan sama seperti di atas
b. Setelah semua steril, potong media *Saboraud Dextrose Agar* steril berbentuk kubus dan letakkan di atas *object glass*.
c. Inokulasikan spora jamur pada bagian atau potongan agar.
d. Tutup potongan agar dengan *cover glass*.
e. Inkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam.
f. Ambil preparat dan diamati di bawah mikroskop.

Prosedur yang lebih sederhana, cara kerja :

a. Sterilkan cawan petri yang berisi kapas yang di atasnya terdapat *object glass* dan *cover glass*.
b. Siapkan media PDA dan dijaga supaya tetap cair.
c. Teteskan media PDA pada *object glass* secara aseptis lalu tunggu memadat (teteskan jangan terlalu banyak).
d. Belah media yang memadat dengan jarum inokulum yang berujung L.
e. Ulaskan spora jamur yang akan diamati pada belahan tersebut.
f. Tutup dengan *cover glass* tepat di atas media dan tekan hingga merata.
g. Inkubasi selama 2x24 jam.
h. Amati pertumbuhan miselium dan spora pada *object glass* dengan perbesaran Sedang

5) Menentukan ukuran mikroorganisme

Mikroba berukuran sangat kecil dan untuk mengetahuinya digunakan mikrometer. Mikrometer merupakan kaca berskala dan dikenal 2 jenis micrometer yaitu mikrometer okuler dan mikrometer objektif. Mikrometer okuler dipasang pada lensa okuler mikroskop, sedangkan micrometer objektif berbentuk slide yang ditempatkan pada meja preparat mikroskop. Jarak antar garis skala pada mikrometer okuler tergantung pada perbesaran lensa objektif yang digunakan yang menentukan lapang pandang mikroskop. Jarak ini dapat ditentukan dengan mengkalibrasi antara mikrometer okuler dan objektif. Mikrometer objektif memiliki skala yang telah diketahui, menjadi tolak ukur untuk menentukan ukuran skala micrometer okuler. 1 skala micrometer objektif = 0,01 mm / 10 µm.

Kalibrasi dilakukan dengan menghimpitkan skala mikrometer objektif dan okuler pada perbesaran yang diinginkan. Skala ke nol (garis pertama) kedua mikrometer disimpulkan menjadi 1 garis kemudian dilihat pada skala ke berapa kedua jenis mikrometer tersebut bertemu/berhimpit kembali. Dari hasil tersebut dapat diketahui satu satuan panjang pada skala mikrometer okuler itu berdasarkan beberapa jumlah skala kecil mikrometer objektif yang berada di antara garis yang berhimpit tadi.

1 skala okuler = Jarak yang diketahui antara 2 garis pada mik. Objektif (O.D = Okuler Division) Jarak skala pada mikrometer okuler

$$= \frac{0{,}01 \text{ X Skala Objektif (mm)}}{\text{Skala Okuler}}$$

$$= \frac{10 \text{ X Skala Ob } (\mu m)}{\text{Skala Ok}}$$

Misal : jika skala ke 0 mikrometer okuler berhimpit dengan skala ke 0 mikrometer objektif lalu skala ke 13 mikrometer okuler berhimpit dengan skala ke 2 mikrometer objektif maka beberapa 1 skala okuler.

1 Skala Okuler = 0,01 x 2/13

= 0,02 = 0,00154 mm = 1,54 µm

Cara Kerja :

Kalibrasi :

- Letakkan mikrometer objektif pada meja benda dan pasang mikrometer okuler pada tabung lensa okuler.
- Tentukan perbesaran yang digunakan, (misalnya 40 X 10) kemudian cari gambar perbesaran dari skala mikrometer objektif.
- Setelah fokus didapat, kemudian selanjutnya himpitkan skala ke nol mikrometer objektif dan okuler.
- Cari dengan teliti skala ke berapa antara mikrometer objektif dan okuler yang berhimpit lagi.
- Hitung besarnya skala okuler dengan rumus di atas.

Penentuan ukuran mikroba

- Lepaskan mikrometer objektif dari meja benda.
- Ganti dengan preparat ulas yang telah disiapkan
- Cari fokus dari preparat tersebut dengan perbesaran yang sama.
- Hitung berapa panjang sel dengan menghitung skala mikrometer okuler.
- Jika diperlukan hitung lebar sel dengan cara yang sama. Tabung lensa okuler dapat diputar dan dicari posisi yang pas.
- Hitung panjang dan lebar sel sebenarnya :
  x skala okuler X hasil kalibrasi
  y skala okuler X hasil kalibrasi

misal : 5 X 1,54 = 7,7 µm

X 1,54 = 3,08 µm

h. Menentukan jumlah mikroorganisme (Enumerasi)

1) Penghitungan jumlah bakteri hidup (tidak langsung)

a) *Plate Count* (hitungan cawan)

Plate count / *viable count* didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel mikroorganisme hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan lingkungan yang sesuai. Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroorganisme dalam suspensi tersebut. Koloni yang tumbuh tidak selalu berasal dari satu sel mikroorganisme karena beberapa mikroorganisme tertentu cenderung membentuk kelompok atau berantai. Berdasarkan hal tersebut digunakan istilah *Coloni Forming Units* (CFU's) per ml. koloni yang tumbuh berasal dari suspensi yang diperoleh menggunakan pengenceran bertingkat dari sebuah sampel yang ingin diketahui jumlah bakterinya. Syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut "

- Satu koloni dihitung 1 koloni.
- Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni.
- Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni.
- Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni.
- Koloni yang terlalu besar (lebih besar dari setengah luas cawan) tidah dihitung.
- Koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung 1 koloni.

Cara menghitung sel relatif / CFU's per ml

CFU's / ml = jumlah koloni X faktor pengenceran

Misal : penanaman dilakukan dari tabung pengenceran 10 -6 dengan metode Spread Plate dan Pour Plate.

Spread plate : koloni = 50 = 50 x 106 CFU's / 0,1 ml

Fp = 1/10 -6 = 50 000 000 CFU's / 0,1 ml

SP = 0,1 ml = 500 000 000 CFU's / ml

= 5x108 CFU's / ml

Pour plate : koloni = 50 = 50 x 106 CFU's / 1 ml

Fp = 1/10 -6 = 50 000 000 CFU's / 0,1 ml

SP = 1 ml = 5x107 CFU's / ml

b) Standard Plate Count (SPC)

Koloni yang dipilih untuk dihitung menggunakan cara SPC memiliki syarat khusus berdasarkan statistic untuk memperkecil kesalahan dalam perhitungan. Perhitungan mengacu kepada standar atau peraturan yang telah ditentukan. Syarat-syaratnya sebagai berikut :

- Pilih cawan yang ditumbuhi koloni dengan jumlah 30-300 koloni. > 300 = TNTC (*Too Numerous To Count*) atau TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung). < 30 = TFTC (*Too Few To Count*).

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	SPC	Keterangan
234	20	5	$2{,}3X10^{4}$	28 dan 5 <30
650	127	10	$1{,}3X10^{5}$	650 >300
TNTC	TNTC	195	$2X10^{6}$	TNTC >300

- Jumlah koloni yang dilaporkan terdiri dari 2 digit yaitu angka satuan dan angka sepersepuluh yang dikalikan dengan kelipatan 10 (eksponensial), missal 2,3 X 104, bukan 2,34 X 104. pembulatan keatas dilakukan pada angka seperseratus yang sama atau lebih besar dari lima, missal 2,35 X 104 menjadi 2,4 X 104, atau 2,34 X 104 menjadi 2,3 X 104.

- Bila diperoleh perhitungan < 30 dari semua pengenceran, maka hanya dari pengenceran terendah yang dilaporkan.

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	SPC	Keterangan
15	1	0	$1,5X10^{3}$	Semua <30

- Bila diperoleh perhitungan > 300 dari semua pengenceran, maka hanya dari pengenceran tertinggi yang dilaporkan.

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	SPC	Keterangan
TNTC	TNTC	358	$3,6X10^{6}$	Pngc.trtgg(10^{-4})
TNTC	325	18	$3,3X10^{5}$	Pngc.trtgg(10^{-3})

- Bila ada 2 cawan, masing-masing dari pengenceran rendah dan tinggi yang berurutan dengan jumlah koloni 30-300 dan hasil bagi dari jumlah koloni pengenceran tertinggi dan terendah ≤ 2, maka jumlah yang dilaporkan adalah nilai rata-rata. Jika hasil bagi dari pengenceran tertinggi dan terendah > 2 maka jumlah yang dilaporkan adalah dari cawan dengan pengenceran terendah.

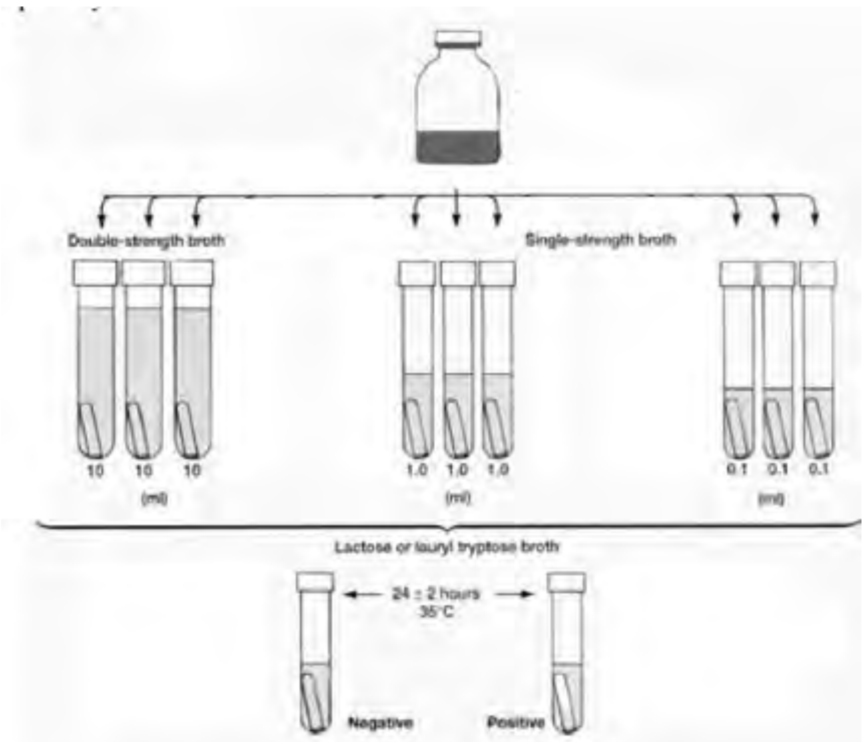
10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	SPC	Keterangan
295	40	5	$3,5X10^{4}$	40.000/29.500<2
140	35	1	$1,4X10^{4}$	35.000/14.000>2

- Apabila setiap pengenceran digunakan 2 cawan petri (duplo), maka jumlah angka yang digunakan adalah rata-rata dari kedua nilai jumlah masingmasing setelah diperhitungkan.

10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	SPC	Keterangan
175 208	15 20	5 2	(17.500+20.800)/2 = $1,9X10^{4}$	15 dan 20 <30
135 165	45 45	5 8	(13.500+16.500)/2 = $1,5X10^{4}$	45.000/13.500>2 45.000/10.500>2 Dilap. Pengc. terendah
275 285	35 40	5 7	(27.500/35.000)/2=a (28.500+40.000)/2=b (a+b)/2 = $3,3X10^{4}$	27.500/35.000<2 28.500/40.000<2 Dilap. Hasil rata-rata
290 305	25 28	5 0	(29.000+30.000)/2 = $3X10^{4}$	25 dan 28 <30 meskipun 305>300

c) Most Probable Number (MPN)

Pendekatan lain untuk enumerasi bakteri hidup adalah dengan metode MPN. MPN didasarkan pada metode statistik (teori kemungkinan). Metode MPN ini umumnya digunakan untuk menghitung jumlah bakteri pada air khususnya untuk mendeteksi adanya bakteri koliform yang merupakan kontaminan utama sumber air minum. Ciri-ciri utamanya yaitu bakteri gram negatif, batang pendek, tidak membentuk spora, memfermentasi laktosa menjadi asam dan gas yang dideteksi dalam waktu 24 jam inkubasi pada 37º C. Sampel ditumbuhkan pada seri tabung sebanyak 3 atau 5 buah tabung untuk setiap kelompok. Apabila dipakai 3 tabung maka disebut seri 3, dan jika dipakai 5 tabung maka disebut 5 seri. Media pada tabung adalah *Lactose Broth* yang diberi indikator perubahan pH dan ditambah tabung durham. Pemberian sampel pada tiap seri tabung berbeda-beda. Untuk sampel sebanyak 10 ml ditumbuhkan pada media LBDS (Lactose Broth Double Stegth) yang memiliki komposisi *Beef extract* (3 gr), *peptone* (5 gr), *lactose* (10 gr) dan *Bromthymol Blue* (0,2 %) per liternya. Untuk sampel 1 ml dan 0,1 ml dimasukkan pada media LBSS (*Lactose Broth Single Stegth*) yang berkomposisi sama tapi hanya kadar laktosa setengah dari LBDS yaitu 5 gr. Berdasar sifat coliform, maka bakteri ini dapat memfermentasikan laktosa menjadi asam dan gas yang dideteksi oleh berubahnya warna dan gas dalam tabung durham. Nilai MPN ditentukan dengan kombinasi jumlah tabung positif (asam dan gas) tiap serinya setelah diinkubasi



Cara kerja :

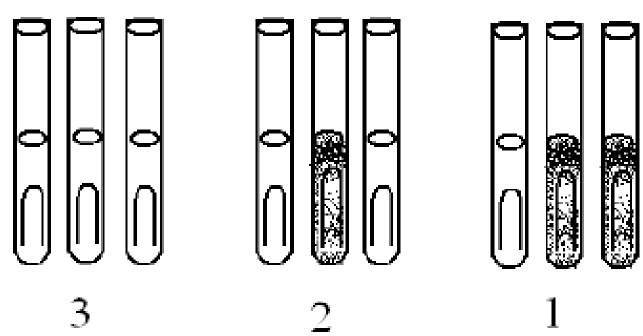
- Sediakan 3 tabung berisi LBDS (9 ml tiap tabung) dan 6 tabung berisi LBSS (9 ml tiap tabung) lengkap dengan tabung durham. Atur kesembilan tabung menjadi 3 seri (seperti di gambar).
- Kocok botol yang berisi air sampel.
- Pindahkan suspensi air sample sebanyak 10 ml ke masing-masing tabung seri pertama (3 tabung LBDS), secara aseptis.
- Pindahkan suspensi air sampel sebanyak 1 ml ke masing-masing tabung seri kedua (3 tabung LBSS), secara aseptis.
- Pindahkan suspensi air sampel sebanyak 1 ml ke masing-masing tabung seri ketiga (3 tabung LBSS), secara aseptis.
- Inkubasi semua tabung pada suhu 37º C selama 48 jam.
- Lihat tabung gas positif (asam dan gas ; harus ada keduanya), lalu hitung tabung positif untuk tiap seri. Tulis

kombinasi tabung positif tiap seri (misal : 3 2 1). Kombinasi angka tersebut lalu dicocokkan dengan tabel MPN untukseri 3 sehingga diperoleh jumlah mikroba sebenarnya.

nomor tabung yang positif			indeks MPN per 100 ml	95% batas kepercayaan	
10 ml	1 ml	0,1 ml		terendah	tertinggi
0	0	1	3	<0.5	9
0	1	0	3	<0.5	13
1	0	0	4	<0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

Misal :

didapatkan kombinasi jumlah tabung positif : 321 maka jumlah bakteri *coliform* adalah 150 sel/100 ml.



2) Penghitungan jumlah bakteri secara keseluruhan (langsung)

Penghitungan secara langsung dapat dilakukan secara mikroskopis yaitu dengan menghitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil. Alat yang digunakan adalah *Petroff-Hauser Chamber* atau *Haemocytometer*. Jumlah cairan yang terdapat antara *coverglass* dan alat ini mempunyai volume tertentu sehingga satuan isi yang terdapat dalam satu bujur sangkar juga tertentu. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm^2. Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,2 mm. Satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel nakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung tersebut sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui.

Luas kotak sedang :

= p x l

= 0,2 x 0,2 = 0,04 mm2 jadi misalnya diperoleh:

Volume kotak sedang : 20 sel dalam satu kotak sedang

= 0,04 mm2 x 0,1 mm maka jumlah sel keseluruhan :

= 0,004 mm3 = 20 x (1/4) x 106

Karena 1 ml = 1cm2 = 5 x 106 sel/ml

Maka :

= 0,004 mm3

= 0,000004 cm3

= 4x10-6 ml

Sel/ml :

= jumlah sel/4x10-6 ml

= (jumlah sel/4) x 106

= jumlah sel x (¼) x 106

= jumlah sel x 2,5 x 105

Kotak sedang :

Jumlah sel/ml = jumlah sel x 2,5 x 105

Dengan perhitungan yang sama maka diperoleh rumus untuk

kotak kecil :

Jumlah sel/ml = jumlah sel x 4 x 106

Cara kerja (digunakan kotak sedang) :

- Bersihkan *Petroff-Hauser Counting Chamber* atau *Haemocytometer* dengan alkohol 70 % lalu keringkan dengan *tissue*.
- Letakkan cover glass di atas alat hitung.
- Tambahkan ± 50 µl suspensi sel *yeast* (kira-kira 1 tetes) dengan cara meneteskan pada parit kaca pada alat hitung. Suspensi sel akan menyebar karena daya kapilaritas.
- Biarkan sejenak sehingga sel diam di tempat (tidak terkena aliran air dari efek kapilaritas).
- Letakkan alat hitung pada meja benda kemudian cari fokusnya pada perbesaran 40x10.
- Lakukan perhitungan secara kasar apakah diperlukan pengenceran atau tidak. Jika dalam satu kotak sedang terdapat sel-sel yang banyak dan bertumpuk maka perhitungan akan tidak akurat dan diperlukan pengenceran dengan perbandingan 1:5 atau 1:10.
- Hitung sampel, paling tidak sebanyak 5 kotak sedang (lebih banyak lebih baik). Hasil perhitungan dirata-rata kemudian hasil rataan dimasukkan rumus untuk kotak sedang. Jika dilakukan pengenceran maka jumlah sel/ml dikalikan faktor pengenceran.

3) Syarat-syarat perhitungan jumlah bakteri menurut AOAC

(*Association Of Official Analytical Chemistry*) EDISI 14 Tahun 1984:

a. Hitung jumlah koloni, kalikan jumlah koloni (atau rata-rata jumlah

, jika dilakukan ulangan dalam pengenceran yang sama) dengan kebalikan dari pengencerannya. Catat pengenceran yang digunakan dan jumlah koloni yang terhitung atau diduga pada tiap petri. Untuk mencegah kesalahan ketelitian dan akurasi, catat hanya dua digit pertama saja. Digit kedua dapat ditingkatkan jika digit ketiga di atas 5. Gunakan nol untuk digit setelah digit kedua. Laporkan jumlah atau dugaan jumlah sebagai cfu/g atau cfu/mL

b. Jika jumlah pada ulangan petri atau pengenceran berurutan dirata-rata, hanya yang memenuhi syarat yang dirata-rata.

Contoh:

Pengenceran 1:100 jumlah koloni 224 dan 180

Pengenceran 1:1000 jumlah koloni 28 dan sp (spreader)

Pengenceran 1:100 dirata-rata, hasilnya 202. Pengenceran 1:1000 yang diambil hanya 28 karena sp tidak memenuhi syarat.

rasio/ perbandingan= $\frac{280}{202}$ =1, 4

rata-rata= $\frac{(280+202)}{2}$ =241

rata-rata mikroba = $\frac{1}{Fp}$ =241

=241x $\frac{1}{1.10^{-3}}$ =24.100

Karena digit ketiga kurang dari 5, maka jumlah mikroba adalah 24.000 cfu/g

4) Aturan lengkap untuk perhitungan jumlah koloni

a) Jumlah koloni 25-250

Seleksi petri dengan jumlah koloni antara 25 sampai 250, tidak termasuk sreader. Hitung semua koloni termasuk yang kecil, catat pengenceran yang digunakan lalu hitung jumlah mikrobanya.

Pengenceran		Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)
1:100	1:1000	
234*	23	23.000
Sp	31*	31.000
305	42*	42.000
243*	kl	24.000

Keterangan:

*= jumlah koloni yang memenuhi syarat

Sp= spreader

Kl= kesalahan laboratoris

b) Ulangan

Pakai pengenceran yang jumlah koloninya memenuhi syarat, lalu dirata-rata kemudian dikali Fp (faktor pengenceran)hingga diperoleh jumlah mikrobanya

Contoh:

Pengenceran		Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)
1:100	1:1000	
175 208	16 17	*Rata-rata*= $\frac{(175+208)}{2}$ = *191,5* *jumlah=191,5* $\frac{1}{1.10^{-2}}$ = *1900 cfu/g*

Jika hanya satu petri dari pasangan petri yang memenuhi syarat 25-250, hitung kedua petri, kecuali untuk spreader.

Contoh :

Pengenceran		Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)
1:100	1:1000	
275 24	24 35*	*Rata-rata*= $\frac{(24+32)}{2}$ = *29,5* *jumlah=2,5* $\frac{1}{1.10^{-3}}$ = *30.000 cfu/g*

c) Pengenceran berurutan dengan jumlah koloni 25-250

Jika jumlah koloni antara 25-250, maka cari rasio antar pengenceran. Apabila rasionya kurang dari 2, maka jumlah mikroba diperoeh dari nilai rata-rata. Jika rasionya lebih besar atau sama dengan 2, maka digunakan data dari pengenceran terendah

Contoh:No	Pengenceran		rasio	Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)
	1:100	1:1000		
1.	243*	34*	1,4	29.000
2.	140*	32*	2,3	14.000
3.	228*	28*	1,2	25.000
4.	138* 162*	42* 30*	2,4	15.000
5.	228* 240*	28* 23	1,1	25.000
6.	224* 180*	28* sp	1,4	24.000

Contoh perhitungan:

Contoh no 1.

rasio = $\frac{340}{243}$ = *1,4 < 2*

jumlah = $\frac{(340+2430)}{2}$ = *29.000*

Contoh no 4.

$$rasio = \frac{\frac{(420+300)}{2}}{\frac{138-162}{2}} = 2{,}4 > 2$$

$$jumlah = \frac{138+162}{2} xFp = 150x \frac{1}{1.10^{-2}} = 15.000$$

d) Tidak ada petri dengan jumlah koloni antara 25-250 dan salah satu petri memiliki jumlah koloni lebih dari 250,

Pilih yang paling mendekati 250 dan tulis sebagai hasil dugaan (dug)cfu/mL

Contoh:

Pengenceran		Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)
1:100	1:1000	
325	20	$Jml = 225 \frac{1}{1.10^{-2}} = 33.000\ cfu/g$

e) Semua petri dengan jumlah koloni kurang dari 25

Catat jumlah koloni yang sebenarnya pada pengenceran paling rendah dan laporkan sebagai dugaan cfu/mL atau cfu/g

Contoh:

Pengenceran		Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)
1:100	1:1000	
0	0	< 100 (dug) cfu/g
18 16	2 0	< 100 (dug) cfu/g

f) Tidak ada koloni yang tumbuh (tidak ada senyawa penghambat)

Laporkan jumlah pendugaan dengan kurang dari pada pengenceran paling rendah

Contoh:

Pengenceran	Jumlah mikroba (cfu/g atau cfu/mL)

1:100	1:1000	
0	0	< 100 (dug) cfu/g

1. Jumlah koloni lebih dari 250

   Hitung koloni dalam bagian petri berdasar distribusi yang mewakili.

   - Jika dalam hitungan ada <10 koloni/ cm^2, pilih dalam 12 cm^2dengan cara 6 luasan horizontal berurutan dan 6 luasan sudut kanan berurutan
   - Jika dalam hitungan ada <10 koloni/ cm^2, hitung koloni dalam 4 luasan yang mewakili (seperti di atas) kalikan dengan rata-rata jumlah koloni per cm^2 dengan luas petri (pada umumnya sekitar 56 cm^2).

2. spreader

   - tipe pertama / rantai koloni

     ciri: koloni tidak dapat dipisahkan secara tepat karena ada disintegrasi gumpalan bakteri ketika inokulum ditebarkan dalam media tanam. Jika satu atau lebih rantai jelas berasal dari sumber terpisah, hitung masing- masing sebagai 1 koloni. Jangan hitung tiap-tiap koloni individu dalam rantai sebagai koloni terpisah.
   - tipe kedua

     ciri: perkembangan koloni meluas dalam film air antara agar dan dasar petri, terjadi karena ada akumulasi kelembaban pada tiap sebaran asli. Spreader ini dapat mewakili pertumbuhan koloni individu jika pengenceran terdistribusi secara merata dalam medium
   - tipe ketiga

     ciri: terbentuk dalam film air pada permukaan agar, sama

seperti tipe kedua, spreader ini terjadi karena ada akumulasi kelembaban pada tiap sebaran asli spreader ini juga dapat mewakili pertumbuhan koloni individu jika pengenceran terdistribusi secara merata dalam medium

3. Tugas

1. Pahami semua prosedur/langkah kerja yang berhubungan dengan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara mikrobiologis
2. Tanyakan kepada guru pembimbing jika ada uraian materi dan atau prosedur kerja yang belum dipahami
3. Lakukan kegiatan praktikum analisis bahan hasil pertanian secara mikrobiologis di laboratorium dibawah pengawasan guru pembimbing/pengampu., meliputi:
   a. Sterilisasi peralatan dan media tumbuh mikroba
   b. Membuat media agar untuk pertumbuhan mikroba (bakteri/jamur/ ragi)
   c. Melakukan isolasi mikroba (bakteri/jamur/ragi)
   d. Melakukan pengamatan morfologi dan motilitas mikroba(bakteri/jamur/ragi)
   e. Melakukan perhitungan jumlah mokroba (bakteri/jamur/ragi) pada bahan hasil pertanian dan perikanan

Hal-hal penting yang harus anda perhatikan selama melakukan praktikum adalah sebagai berikut:

1. Gunakan lembar kerja yang telah ditetapkan oleh guru pembimbing/pengampu, diantara lembar kerja yang terdapat pada pembelajaran ini (pada uraian materi)
2. Mematuhi semua instuksi untuk keselamatan kerja
3. Menyiapkan alat untuk praktikum
4. Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum
5. Melaksanakan praktikum sesuai dengan langkah kerja/ prosedur pada lembar kerja
6. Menanyakan hal-hal yang belum dipahami kepada guru pembimbing/pengampu
7. Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung
8. Melakukan diskusi dengan anggota klompok kerja dan pencatatan data hasil pengamatan/diskusi
9. Menghitung/mengolah data hasil pengamatan
10. Membuat laporan hasil praktikum
11. Membersihkan lingkungan laboratorium setelah melakukan praktikum
12. Mengumpulkan laporan kelompok hasil praktikum

4. Refleksi

Petunjuk :

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan .pembelajaran ini!
   ....
   ....
   ....

5. Tes Formatif

1. Jelaskan klasifikasi mikroorganisme pangan yang anda ketahui?
2. Jelaskan faktor-faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan pengujian bahan pangan scr mikrobiologis?
3. Jelaskan kelompok bahan pangan yang dapat diuji secara mikrobiologis?
4. Jelaskan beberapa cara sterilisasi yang dapat dilakukan untuk peralatan gelas dan media pertumbuhan mikroba?
5. Faktor-faktor apa saja yang harus diperhatikan dalam melakukan kerja secara aseptis?
6. Jelaskan teknik pengambilan sampel pada kegiatan isolasi mikroba,jika sumber mikrobanya diambil dari tanah dan air?
7. Jelaskan tahapan teknik pengenceran bertingkat pada kegiatan isolasi mikroba>
8. Jelaskan macam/jenis media untuk pertumbuhan mikroba?
9. Jelaskan tahapan teknik penanaman mikroba pada media tumbuh dengan goresan?
10. Jelaskan teknik perhitungan jumlah sel mikroba (bakteri dengan menggunakan “counting chamber”?
11. Jelaskan prinsip kerja dalam melakukan pewarnaan gram, pewarnaan positif dan pewarnaan negatif ?

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Skala penilaian sikap dibuat dengan rentang antara 1 s.d 4.

1 = BT (belum tampak) *jika* sama sekali tidak menunjukkan usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas

2 = MT (mulai tampak) *jika* menunjukkan sudah ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas tetapi masih sedikit dan belum ajeg/konsisten

3 = MB (mulai berkembang) *jika* menunjukkan ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas yang cukup sering dan mulai ajeg/konsisten

4 = MK (membudaya) *jika* menunjukkan adanya usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas secara terus-menerus dan ajeg/konsisten

No	Sikap	Religius				Disiplin				Tanggug jawab				Peduli				Responsif				Teliti				Jujur				Santun			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Mengamati																																
2	Menanya																																
3	Mengeksplorasi																																
4	Mengasosiasikan																																
5	Mengkomunikasikan																																

2. Penilaian Pengetahuan

1. Jelaskan beberapa cara sterilisasi yang dapat dilakukan untuk peralatan gelas dan media pertumbuhan mikroba?
2. Jelaskan teknik pengambilan sampel pada kegiatan isolasi mikroba, jika sumber mikrobanya diambil dari tanah dan air?
3. Jelaskan tahapan teknik pengenceran bertingkat pada kegiatan isolasi mikroba>
4. Jelaskan macam/jenis media untuk pertumbuhan mikroba?
5. Jelaskan tahapan teknik penanaman mikroba pada media tumbuh dengan goresan?
6. Jelaskan teknik perhitungan jumlah sel mikroba (bakteri dengan menggunakan “counting chamber”?
7. Jelaskan prinsip kerja dalam melakukan pewarnaan gram, pewarnaan positif dan pewarnaan negatif ?

3. Penilaian Keterampilan

NO	ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
		1	2	3
1.	Menyiapkan alat untuk praktikum			
2.	Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum			
5.	Melaksanakan langkah kerja sesuai prosedur			
6.	Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung			
7.	Melakukan pencatatan data			
8.	Menghitung/mengolah data hasil pengamatan			
9.	Membuat laporan hasil praktum			
10.	Membersihkan lingkungan praktikum			

Rubrik :

ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
	1	2	3
Menyiapkan alat untuk praktikum	Alat tidak disiapkan	Alat disiapkan tidak sesuai dengan diperlukan	Alat disiapkan sesuai dengan yang diperlukan
Menggunakan bahan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam praktikum	Bahan yang digunakan tidak lengkap	Bahan yang digunakan lengkap tapi ada yang tidak dibutuhkan	Bahan yang digunakan lengkap dan sesuai dengan yang dibutuhkan
Melakukan pengamatan saat praktikum berlangsung	Pengamtan tidak cermat	Pengamatan cermat, tetapi mengandung interpretasi	Pengamatan cermat dan bebas interpretasi
Melakukan pencatatan data pengamatan	Data pengamatan tidak dicatat	Data pengamatan dicatat tetapi ada kesalahan	Data pengamtan dicatat dengan lengkap
Menghitung/ mengolah data hasil pengamatan	Perhitungan data hasil pengamatan salah	Perhitungan data hasil pengamatan benar tetapi tidak sesuai dengan rumus	Perhitungan data hasil pengamatan benar dan lengkap sesuai rumus
Membuat laporan hasil praktikum	Laporan hasil praktikum tidak dibuat	Laporan hasil praktikum rapi dan tidak lengkap	Laporan hasil praktikum rapi dan lengkap
Membersihkan lingkungan tempat praktikum	Lingkungan tempat praktikum tidak dibersihkan	Lingkungan tempat praktikum dibersihkan dan tidak rapi	Lingkungan tempat praktikum dibersihkan dengan rapi.

Kegiatan Pembelajaran 4. Praktek Berlaboratorium Yang Baik (GLP)

A. Deskripsi

Praktek berlaboratorium yang baik (GLP) merupakan salah satu kompetensi dasar kejuruan dari mata pelajaran dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan peserta didik SMK pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan. Kompetensi dasar ini merupakan dasar kejuruan pada paket keahlian agribisnis hasil pertanian dan perikanan yang bertujuan untuk memantapkan pemahaman fakta, konsep, prinsip dan prosedur serta metakognitif mengenai praktek berlaboratorium yang baik (GLP). Pembelajaran ini meliputi: manajemen mutu di laboratorium, praktek berlaboratorium yang baik (GLP), ISO 17025, menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP, melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium. Pelaksanaannya meliputi langkah-langkah pembelajaran mengamati, menanya, mengeksplorasi keterampilan proses dalam bentuk eksperimen, mengasosiasi, dan mengkomunikasikan hasil pengamatan dan percobaan, kesimpulan berdasarkan hasil pengamatan/analisis secara lisan, tertulis, atau media lainnya. Media yang digunakan meliputi alat dan bahan praktikum sertain focus. Penguasaan materi peserta didik dievaluasi melalui sikap, pengetahuan dan keterampilan.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari tentang praktek berlaboratorium yang baik (GLP), peserta didik diharapkan mampu:

a. Memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen Mutu di Laboratorium
b. Memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP

c. Memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025
d. Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP
e. Melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium

2. Uraian Materi

a. Manajemen Mutu di Laboratorium

Sejak penerapan ISO/Guide 25: 1982 penggunaan sistem mutu laboratorium berkembang dengan pesat karena banyak digunakan berbagai negara sebagai dasar membentuk sistem mutu di laboratorium dan digunakan sebagai pedoman untuk mengetahui kemampuan laboratorium oleh badan akreditasi maupun pelanggan.

Indonesia telah mengadopsi ISO / IEC 25 menjadi BSN-101 tentang persyaratan umum kemampuan Laboratorium Kalibrasi dan laboratorium penguji. BSN-101 difokuskan pada kegiatan laboratorium kalibrasi dan laboratorium pengujian dengan memperhatikan persyaratan kemampuan laboratorium tercantum dalam Organisation for economic Cooperation Development (OECD) tentang Good Laboratory practice (GLP). Elemen-elemen dalam GLP adalah :

1. Sumber daya manusia yang mempunyai kualifikasi dan pengalaman yang baik
2. Kalibrasi dan perawatan peralatan laboratorium yang tepat
3. Sistem jaminan mutu yang sesuai
4. Teknik pengambilan contoh uji dan metode pengujian yang telah divalidasi
5. Mampu telusur pengukuran dan sitem kalibrasi ke standar nasional/ Internasional
6. Sistem dokumentasi dan pelaporan data hasil pengujian
7. Sarana dan lingkungan pengujian.

Untuk dapat mempertahankan konsistensi data hasil uji yang absah tak terbantahkan, laboratorium pengujian hendaknya merencanakan semua kegiatannya secara sistematik, sehingga memberikan kepercayaan kepada pelanggan bahwa data yang dihasilkan tersebut telah memenuhi persyaratan mutu. Hal ini dimungkinkan apabila laboratorium menetapkan, menerapkan dan memelihara sistem mutu yang sesuai ruang lingkup kegiatannya.

Sistem mutu harus didokumentasikan secara penuh dan paling tidak mempunyai informasi sebagai berikut :

1. Ruang lingkup tugas laboratorium.
2. Organisasi dan staf laboratorium.
3. Operasi, kalibrasi dan jadwal maintenance peralatan dan instrumentasi.
4. Spesifikasi dan instruksi penyimpanan bahan kimia dan reagen.
5. Inventarisasi prosedur test dan analisa secara komplit dan rinci.
6. Inventarisasi penuh dan rinci tentang semua SRM (*Standard Reference Material*) baik yang disertifikasi maupun khusus untuk laboratorium (*in house*) guna validasi analisa dan kalibrasi peralatan.
7. Dokumentasi, penyimpanan dan arsip yang memadai untuk catatan contoh, data analisa mentah (*raw*), laporan akhir test dan validasi hasil termasuk SRM.

Dokumentasi sistem mutu tersebut harus dikomunikasikan, dimengerti dan diterapkan oleh semua personel laboratorium yang bersangkutan. Sistem mutu harus dikembangkan menjadi dokumen kerja yang merinci kebijakan dan tujuan serta keterkaitannya pada praktek berlaboratorium yang benar (GLP). Dokumen sistem mutu harus ditinjau sedikitnya sekali dalam setahun oleh personel yang berwenang untuk menjamin kesesuaian dan efektifitasnya secara berkesinambungan serta melakukan perubahan atau penyempurnaan jika diperlukan.

Elemen-elemen jaminan sistem mutu terdiri dari penggabungan antara persyaratan manajemen mutu yang mengacu pada ISO seri 9000 dan persyaratan teknis dari ISO/IEC Guide 25. Persyaratan kompetensi teknis yang meliputi: personel, peralatan, akomodasi, lingkungan, validasi metode, pengendalian, rekaman dan laporan merupakan persyaratan akreditasi yang harus dipenuhi oleh suatu laboratorium.

b. Praktek Berlaboratorirum yang baik (*Good Laboratory Practice* : GLP)

1) Good Laboratory Practice (GLP)

Good Laboratory Practice (GLP) atau praktek laboratorium yang baik/benar pertama kali dikemukakan dalam *New Zealand Testing Laboratory Registraction Act of 1972*. Undang-undang tersebut bertujuan untuk menetapkan kebijakan nasional di bidang pengujian serta digunakan sebagai dasar untuk mendirikan sebuah *Testing Laboratory registration Council*.

Kemudian diadopsi oleh pemerintah Denmark dalam Danish National Testing Board No.144, 21st March 1973 Selanjutnya Amerika Serikat melalui *Food and Drug Administration (FDA)* pada tahun 1976 juga menetapkan peraturan tentang GLP tersebut tertuang dalam *Food and Drug Administration Non-Clinical Laboratory Studies-Proposed Regulation for Good Laboratory Practice 19th* November 1976 kemudian diterbitkan sebagai *Food and Drug Administration Non-Clinical Laboratory Studies-Proposed Regulation for Good Laboratory Practice* Regulation final Rule 22th November 1978. FDA merupakan badan pemerintah yang menetapkan kesesuaian peraturan GLP secara tegas.

Hal ini mendorong negara-negara lain dan organisasi internasional seperti *Organization for Economic Co-operation and Development*

(OECD) dan *World Health Organization (WHO*) menuangkan GLP dalam suatu peraturan. Selanjutnya pada tahun yang sama 16 negara yang tergabung dalam OECD. Enam (6) organisasi internasional bertemu di Stockholm menyimpulkan :

- Pengembangan persyaratan data secara konsisten serta metode pengujian
- Pengembangan standar GLP secara konsisten dan efektif serta penerapannya.

Pada tahun 1981 atas usulan dari pertemuan tingkat tinggi kelompok kimia yang didukung oleh komisi lingkungan dari OECD diputuskan bahwa data yang dihasilkan dari pengujian kimia oleh negara anggota OECD harus diterima oleh negara lain jika pengujian tersebut sesuai dengan prinsip GLP yang ditetapkan oleh organisasi tersebut. Dengan demikian tidak terjadi duplikasi pengujian yang pada akhirnya menghemat biaya, waktu dan mengurangi limbah laboratorium serta meningkatkan perlindungan terhadap kesehatan manusia dan lingkungan.

Good Laboratory Practice (GLP) adalah keterpaduan suatu proses organisasi, fasilitas, personel dan kondisi lingkungan laboratorium yang benar sehingga menjamin pengujian di laboratorium selalu direncanakan, dilaksanakan, dimonitor, direkam, dan dilaporkan sesuai dengan persyaratan kesehatan dan keselamatan serta perdagangan. Penerapan GLP dapat menghindari kekeliruan atau kesalahan yang mungkin timbul sehingga dapat menghasilkan data yang tepat, akurat dan tak terbantahkan yang pada akhirnya dapat dipertahankan secara ilmiah maupun secara hukum.

Dari definisi tersebut GLP adalah suatu alat manajemen laboratorium yang memberlakukan bagaimana mengorganisasikan laboratorium

pengujian dengan tujuan mencegah kesalahan serta meningkatkan dan menjaga mutu data hasil uji. Sebagai alat manajemen GLP bukan merupakan bagian pengetahuan ilmiah namun merupakan praktek laboratorium untuk mencapai mutu data pengujian yang konsisten.

Sebagai alat manajemen, GLP bukan merupakan bagian dari ilmu pengetahuan ilmiah namun hanya merupakan pelengkap dalam praktek berlaboratorium untuk mencapai mutu data hasil uji yang konsisten.

Penerapan GLP bertujuan untuk meyakinkan bahwa hasil uji yang dilakukan telah mempertimbangkan :

- Perencanaan dan pelaksanaan yang benar (*Good Planning and Execution*)
- *Praktek pengambilan sampel yang baik (Good Sampling Practice*,)
- *Praktek melakukan analisa yang baik (Good Analytical Practice*,)
- *Praktek melakukan pengukuran yang baik (Good Measurement Practice)*.
- *Praktek mendokumentasikan hasil pengujian / data yang baik (Good Documentation Practice)*.
- *Praktek menjaga akomodasi dan lingkungan kerja yang baik Good Housekeeping Practice.*

2) Organisasi Laboratorium

Untuk mendapatkan suatu laboratorium pengujian yang efisien dan efektif sesuai dengan GLP diperlukan suatu organisasi dan manajemen dengan uraian yang jelas mengenai susunan, fungsi, tugas dan tanggung jawab serta wewenang bagi para pelaksananya.

Struktur organisasi laboratorium harus menunjukan garis kewenangan, ruang lingkup tanggung jawab, uraian kerja serta hubungan timbal balik

semua personel yang mengelola, melaksanakan atau memverifikasi pekerjaan yang dapat mempengaruhi mutu pengujian. Bentuk struktur organisasi harus disesuaikan dengan tujuan utama laboratorium dengan mempertimbangkan ruang lingkup, jenis atau komoditi, serta beban kegiatan pengujian. Hal ini menyebabkan organisasi pada setiap laboratorium pengujian tidak akan sama.

Manajer atau pimpinan laboratorium mengambil seluruh tanggung jawab dalam laboratorium yang berfungsi sebagai pengambil keputusan tentang kebijakan ataupun sumber daya yang ada di laboratorium. Labortorium harus menunjuk salah satu personelnya sebagai manajer mutu yang diberi tanggung jawab dan wewenang untuk meyakinkan bahwa sistem manajemen mutu diterapkan dan diikuti sepanjang waktu. Manajer mutu tersebut harus dapat berhubungan langsung dengan manajer tertinggi laboratorium. Di samping itu, laboratorium harus mempunyai manajer teknis yang mempunyai tanggung jawab atas seluruh operasional teknis serta menetapkan sumber daya yang dibutuhkan untuk meyakinkan bahwa operasional laboratorium telah memenuhi persyaratan mutu.

3) Tenaga Kerja (Personel)

Penempatan personel dalam organisasi laboratorium harus disesuaikan dengan kualifikasi dan pengalaman yang tepat. Laboratorium harus memiliki ketentuan untuk menjamin agar seluruh personelnya bebas dari pengaruh komersial baik secara internal maupun eksternal, pengaruh keuangan serta tekanan lainnya yang dapat mempengaruhi mutu kerjanya. Laboratorium harus didukung oleh personel yang mempunyai tanggung jawab terhadap penerapan sistem manajemen mutu dan personel teknis dalam kegiatan operasional laboratorium. Personel tersebut harus mempunyai wewenang dan uraian kerja yang

jelas serta harus ditunjang dengan sumber daya yang diperlukan untuk melakukan tugasnya.

Untuk mendapatkan personel yang *qualified*, manajemen laboratorium harus merumuskan pendidikan, pelatihan, dan keterampilan personel laboratorium. Program pelatihan harus relevan dengan tugas sekarang dan tugas masa depan yang diantisipasi oleh laboratorium. Harus ada catatan atau data tentang kualifikasi, pengalaman dan latihan yang dipunyai oleh setiap personel.

Pada dasarnya, program pelatihan berguna bagi personel yang memerlukan pengetahuan dan keterampilan atau mereka yang masih membutuhkan peningkatan keahlian. Karena itu, langkah pertama adalah melakukan analisis kebutuhan pelatihan bagi seluruh personel laboratorium.Secara umum jenis pelatihan meliputi :

Internal Training, yang terdiri dari :

- *on the job training* untuk personel baru,merupakan pembekalan yang dilakukan dalam bentuk pengarahan oleh personel senior yang berwenang terhadap personel baru sebelum mendapat tugas dan tanggung jawab.
- *in house training* untuk seluruh atau sebagian personel lama, didasarkan atas kebutuhan dan antisipasi terhadap lingkup pekerjaan laboratorium yang dirasakan perlu bagi mayoritas personel.

External training, dilaksanakan di luar laboratorium atas undangan dari pihak luar dalam suatu program pelatihan. Training tersebut biasanya diikuti oleh personel yang kompeten sehingga dapat memberikan

pengetahuan yang didapat kepada personel lain. Pelatihan jenis ini dikenal dengan istilah *training of trainer*.

Apapun jenis pelatihan yang telah dilakukan, personel laboratorium harus membuat laporan dan bila memungkinkan melakukan presentasi serta dievaluasi oleh personel lain yang berwenang.

4) Keselamatan (*Safety*)

Personel laboratorium harus berlatih cara kerja yang aman sesuai dengan peraturan keselamatan laboratorium dan sesuai pula dengan peraturan nasional atau internasional dalam bidang keselamatan dan kesehatan. Semua personel harus memenuhi semua peraturan keselamatan untuk meminimalkan resiko bagi diri pekerja sendiri serta kawan kerja. Kesehatan para personel harus selalu dimonitor sesuai peraturan atau keperluan. Personel yang diketahui berpenyakit tidak diperkenankan berada ditempat kerja agar tidak memperburuk keadaan atau menularkan penyakit.

1.ISO/IEC 17025:2000

Pada tahun 2000, sebagai hasil pengalaman yang luas dalam menerapkan ISO/IEC Guide 25: 1990 dan EN 45001:1989 kedua standar tersebut disempurnakan menjadi ISO/IEC 17025:2000 "*General Requirement for Competence of Testing and Calibration.* Dengan demikian dua standar tersebut tidak berlaku lagi. ISO/IEC 17025 merupakan perpaduan antara persyaratan manajemen dan persyaratan teknis yang harus dipenuhi oleh laboratorium pengujian/kalibrasi. Laboratorium yang telah menerapkan ISO/IEC 17025 sudah sesuai dengan persyaratan standar ISO seri 9000 termasuk di dalamnya model yang digunakan dalam ISO 9002, jika laboratorium melakukan pengujian dengan metode standar dan ISO 9001 jika laboratorium

terlibat dalam desain atau pengembangan metode pengujian atau kalibrasi.

Apabila laboratorium mendapatkan akreditasi dari badan akreditasi laboratorium yang mempunyai perjanjian saling pengakuan (*Mutual Recognition Agreements : MRA*) dengan badan akreditasi lain maka negara tersebut harus dapat saling menerima data hasil uji dari laboratorium yang bersangkutan

Jika dibandingkan dengan ISO/IEC Guide 25:1990, maka ISO/IEC 17025 : 2000 lebih teratur karena persyaratan manajemen 14 elemen dan persyaratan teknis 10 elemen terpisah sehingga memudahkan penerapannya. Sedangkan ISO/IEC Guide 25:1990 yang terdiri dari 13 elemen tidak membedakan antara persyaratan teknis dan persyaratan manajemen.

2.SNI 19-17025:2000

Indonesia telah mengadopsi ISO/IEC 17025 menjadi SNI 19-17025:2000. Satu-satunya lembaga akreditasi di Indonesia yang mengeluarkan sertifikat SNI 19-17025:2000 adalah KAN – BSN (Komite Akreditasi Nasional-Badan Standarisasi Nasional). Sertifikat untuk Laboratorium pengujian yang dikeluarkan oleh KAN – BSN sudah diakui oleh negara-negara kawasan Asia Pasific karena sudah mempunyai perjanjian saling pengakuan (*Mutual Recognition Agrements*).

Kepala Badan Standarisasi Nasional selaku Ketua Komite Akreditasi Nasional sesuai dengan keputusan No.: 1976/KAN-I/HK.37/07/2000 memutuskan bahwa SNI 19-17025:2000 tentang persyaratan umum kompetensi laboratorium pengujian dan laboratorium kalibrasi, sebagai persyaratan akreditasi laboratorium yang berlaku mulai 1 Agustus 2000.

5) Ruang Lingkup

1. Standar ini menetapkan persyaratan umum kompetensi dalam melakukan pengujian/kalibrasi termasuk pengambilan contoh. Hal ini mencakup pengujian dengan menggunakan metode yang baku, metode yang tidak baku dan metode yang dikembangkan dilaboratorium.
2. Standar ini dapat diterapkan pada semua organisasi yang melakukan pengujian/kalibrasi. Hal ini mencakup misalnya: laboratorium pihak pertama, kedua, ketiga dan laboratorium pengujian yang merupakan bagian dari inspeksi dan sertifikasi produk. Standar ini dapat diterapkan pada semua laboratorium tanpa mengindahkan jumlah personel atau luasnya kegiatan lingkup pengujian /kalibrasi. Apabila laboratorium tidak melakukan satu atau lebih kegiatan yang tercakup dalam standar ini misalnya pengambilan contoh dan pengembangan metode baru, persyaratan dari ketentuan tersebut tidak diterapkan.
3. Catatan yang diberikan merupakan penjelasan dari teks, contoh dan pedoman. Hal ini tidak berisi persyaratan dan tidak merupakan bagian terpadu dari standar ini
4. Standar ini digunakan di Laboratorium dalam pengembangan sistem mutu, administratif dan teknis yang menentukan kegiatan operasionalnya. Pelanggan laboratorium, pihak yang berwenang dan badan akreditasi dapat juga menggunakan dalam pemenuhan atau pengakuan kompetensi laboratorium.
5. Kesesuaian dengan peraturan dan persyaratan keselamatan pada pengoperasian laboratorium tidak dicakup oleh standar ini.
6. Jika Laboratorium pengujian /kalibrasi memenuhi persyaratan standar ini maka laboratorium tersebut akan melaksanakan sistem mutu untuk kegiatan pengujian / kalibrasi yang juga memenuhi

persyaratan ISO 9001, apabila laboratorium terlibat dalam desain/pengembangan metode baru atau pengembangan program pengujian yang merupakan gabungan dari metode pengujian kalibrasi yang baku dan tidak baku dan memenuhi persyaratan ISO 9002 bila hanya menggunakan metode baku.

c. Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP

1) Metode Pengujian dan Kalibrasi

Metode pengujian dan/atau kalibrasi adalah prosedur teknis tertentu untuk melaksanakan pengujian dan/atau kalibrasi, Tanpa metode laboratorium tidak mungkin melaksanakan kegiatan pengujian, pengukuran atau kalibrasi. Karena itu, laboratorium harus menggunakan metode dan prosedur yang tepat untuk semua jenis pengujian dan/atau kalibrasi yang sesuai dengan ruang lingkupnya, termasuk : pengambilan contoh uji

- penanganan contoh uji
- transportasi
- penyimpanan
- preparasi contoh/barang yang akan diuji dan/atau dikalibrasi
- perkiraan ketidakpastian pengukuran
- teknik statistik untuk analisis data pengujian dan/atau kalibrasi.

Untuk memastikan agar pengujian dan/atau kalibrasi dilakukan dengan benar serta memberikan hasil yang memuaskan dan dapat dipercaya, laboratorium harus menggunakan metode standar internasional maupun nasional. Selain itu, laboratorium dapat juga menggunakan metode non-standar yang mempunyai spesifikasi yang telah diakui serta berisi informasi yang cukup dan ringkas tentang bagaimana melaksanakan pengujian dan/atau kalibrasi tersebut. Dalam hal ini,

tambahan dokumentasi untuk tahapan metode atau detail informasi perlu dilakukan.

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penggunaan metode, antara lain:

- semua metode pengujian dan/atau kalibrasi harus didokumentasikan dan divalidasi;
- semua metode tersebut harus dipelihara kemutakhirannya dan tersedia untuk personel yang tepat;
- metode harus diikuti secara benar sepanjang waktu;
- personel yang bersangkutan harus dilatih dan/atau dievaluasi kompetensinya;
- metode tersebut harus dilakukan secara berkala oleh personel yang bersangkutan untuk memelihara kemahirannya.

2) Validasi Metode

Laboratorium harus memvalidasi metode pengujian dan/atau kalibrasi, termasuk metode pengambilan contoh, sebelum metode tersebut digunakan. Validasi metode adalah konfirmasi dengan cara menguji suatu metode dan melengkapi bukti-bukti yang objektif apakah metode tersebut memenuhi persyaratan yang ditetapkan dan sesuai tujuan tertentu. Dengan kata lain, validasi metode merupakan proses mendapatkan informasi penting untuk menilai kemampuan sekaligus keterbatasan dari suatu metode untuk :

- memperoleh hasil yang dapat dipercaya;
- menentukan kondisi di mana hasil data uji atau kalibrasi diperoleh;
- menentukan batasan suatu metode, misalnya akurasi, presisi, batas deteksi, pengaruh matrik, dan lain-lain.

Validasi metode sangat penting karena menyangkut elemen-elemen yang dapat mempengaruhi, seperti personel, peralatan atau instrumentasi, bahan kimia, kondisi akomodasi dan lingkungan, contoh/barang, dan waktu yang semuanya merupakan faktor yang dapat menimbulkan variasi pada suatu pengujian dan/atau kalibrasi.

Tujuan Validasi metode adalah untuk mengetahui sejauh mana penyimpangan yang tidak dapat dihindari dari suatu metode pada kondisi normal dimana seluruh elemen terkait telah dilaksanakan dengan baik dan benar.

Dalam pelaksanaannya, laboratorium harus memvalidasi :

- metode non-standar;
- metode yang didesain/dikembangkan oleh laboratorium;
- metode standar yang digunakan di luar ruang lingkup (rentang) yang ditentukan;
- penegasan serta modifikasi metode standar untuk konfirmasi bahwa metode tersebut sesuai penggunaan yang dimaksud.

Hal-hal yang biasanya menjadi bahan pertimbangan dalam melaksanakan validasi metode adalah :

- keterbatasan biaya, waktu, dan personel;
- kepentingan laboratorium;
- kepentingan pelanggan;
- diutamakan untuk pekerjaan yang bersifat rutin.

Sebagai bukti bahwa laboratorium telah melakukan validasi metode, laboratorium harus mencatat hasil yang diperoleh, prosedur yang digunakan untuk validasi, dan suatu pernyataan bahwa metode sesuai dengan penggunaan yang dimaksud.

3) Peralatan dan Kalibrasi

a) Peralatan Pengujian

Laboratorium harus dilengkapi dengan peralatan dan instrumentasi yang diperlukan agar pengujian dapat dilaksanakan. Peralatan pengujian, termasuk perangkat keras dan perangkat lunak, harus dilindungi dari penyetelan atau pengoperasian yang dapat menyebabkan tidak validnya hasil pengujian. Peralatan dan perangkat lunak yang digunakan untuk pengujian harus sesuai dengan tugas dan ruang lingkup pengujian, mampu mencapai akurasi yang disyaratkan, serta memenuhi spesifikasi yang relevan dengan pengujian.

Peralatan dan instrument yang tersedia harus diinspeksi secara periodik, dijaga kebersihan, distel dan dikalibrasi sesuai dengan standar. Peralatan dan instrumentasi harus dioperasikan oleh personel yang ahli, terlatih dan ditunjuk. Semua instruksi cara operasi setiap peralatan harus tersedia di tempat.

Catatan setiap peralatan harus ada dan disimpan yang meliputi :

- Nama peralatan, deskripsi dan nomor seri.
- Tanggal perolehan peralatan (delivery)
- Data maintenance, kalibrasi dan perbaikan,
- Keselamatan yang diperlukan bagi setiap peralataan utama.
- Bukti bahwa suatu peralatan tertentu menghasilkan data analisa atau test yang sesuai standar dan memadai untuk kontrak atau peraturan.

b) Program Kalibrasi

Semua peralatan ukur dan instrumentasi harus terlebih dahulu dikalibrasi sebelum digunakan dan dikalibrasi ulang secara reguler. Sistem kalibrasi harus memenuhi persyaratan standar.

Jika laboratorium menggunakan pelayanan kalibrasi oleh pihak luar ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, yaitu :

- Mampu telusur pengukuran harus dijamin oleh laboratorium yang melakukan kalibrasi;
- Laboratorium yang melakukan kalibrasi dapat mendemonstrasikan kompetensinya;
- Dilakukan oleh personel yang *qualified*;
- Menggunakan prosedur yang tepat.

Sertifikat kalibrasi yang diterbitkan oleh laboratorium yang melakukan kalibrasi harus berisi hasil pengukuran, termasuk ketidakpastian pengukuran dan/atau pernyataan kesesuaian spesifikasi metrologi yang ditetapkan.

Standar banding (*Certified Reference Materials/SRMs*) yang dipakai dalam kalibrasi harus bersertifikasi yang dapat ditelusuri menuju standar pengukuran nasional. Apabila penelusuran tidak memungkinkan (contoh : kalibrasi spektros-kopi serapan atom), maka kalibrasi harus divalidasi dengan referensi analisa SRM.

Selang waktu antar kalibrasi harus sesuai dengan standar nasional atau internasional. Apabila standar tidak ada, peralatan dikalibrasi pada interval sesuai tujuan standar. Untuk peralatan yang didasarkan pada perbandingan dan bahan pengukuran mutlak, kalibrasi awal harus dilakukan untuk menjamin ketelitian (*accuracy*) hasil analisa.

Catatan tentang kalibrasi peralatan harus ada dan disimpan. Catatan berisi detail prosedur kalibrasi, sertifikat kalibrasi, tanggal kalibrasi dan frekuensi kalibrasi yang diperlukan.

4) Pengambilan Contoh (Sampling)

Pengambilan contoh didefinisikan sebagai prosedur pengambilan suatu bagian dari substansi, bahan, atau produk untuk keperluan pengujian dari contoh yang mewakili kumpulannya. Hal-hal yang harus dipertimbangkan dalam pengambilan contoh adalah :

- Perencanaan pengambilan contoh
- Petugas pengambil contoh
- Prosedur pengambilan contoh
- Peralatan yang digunakan
- Lokasi dan titik pengambilan contoh
- Frekuensi pengambilan contoh
- Keselamatan kerja
- Dokumentasi yang terkait.

Laboratorium harus mempunyai rencana pengambilan contoh dan prosedurnya, serta harus tersedia pada lokasi di mana pengambilan contoh dilakukan. Perencanaan pengambilan contoh didasarkan pada metode statistik yang tepat dan ditujukan kepada faktor-faktor yang dikendalikan untuk memastikan validitas hasil pengujian.

Prosedur pengambilan contoh harus menguraikan pemilihan, rencana pengambilan contoh, preparasi contoh untuk menghasilkan informasi yang diperlukan. Petugas pengmabil contoh harus dilakukan oleh personel yang *qualified*, dibuktikan dengan pendidikan, pelatihan dan dapat menunjukan keterampilannya dalam pengambilan contoh serta telah ditunjuk atau mewakili laboratorium yang bersangkutan.

a) Penanganan Barang yang Diuji

Laboratorium harus mempunyai prosedur dan fasilitas yang memadai untuk menghindari kerusakan atau kehilangan barang

yang diuji selama penyimpanan, penanganan dan preparasi. Apabila barang/contoh harus disimpan atau dikondisikan dalan kondisi tertentu, maka kondisi tersebut harus dipelihara, dimonitor dan direkam.

Ketika barang yang diuji diterima oleh laboratorium, barang tersebut harus diidentifikasi dengan jelas untuk memastikan bahwa tidak akan terjadi kesalahan pengujian. Oleh karena itu, pencatatan yang perlu diperhatikan saat penerimaan contoh, antara lain :

- Kapan contoh diterima dan tanggal selesai pengujian
- Jumlah dan jenis barang/contoh serta kondisi saat diterima
- Parameter yang diuji serta metode yang digunakan
- Laporan hasil pengujian termasuk nilai ketidakpastian pengukuran
- Spesifikasi teknis yang disyaratkan saat contoh diterima
- Biaya yang diperlukan.

b) Jaminan Mutu Hasil Pengujian

Pengendalian mutu (quality control) adalah bagian dari jaminan mutu (quality assurance). Pengendalian mutu merupakan suatu proses pengendalian atau pemeriksaan untuk memastikan bahwa sistem mutu berjalan secara efektif.

Pada dasarnya, penerapan pengendalian mutu di laboratorium meliputi :

1. Pengendalian mutu *non-numerical*
2. Pengendalian mutu *numerical*

1. Pengendalian Mutu *Non-Numerical*

Pengendalian mutu *non-numerical* merupakan pemeriksaan sistem mutu secara menyeluruh. Adaun penerapan pengendalian mutu *non-numerical* melalui pendekatan *a hazard analysis.*

Pendekatan ini merupakan cara yang sistematik untuk memastikan semua pengendalian yang diperlukan dengan menetapkan seluruh tahapan pada setiap proses operasional, melalui perencanaan pengambilan contoh sampai hasil pengujian, termasuk proses pembelian serta preparasi dan penyimpanan bahan habis pakai.

Setiap tahapan yang relevan tersebut harus diidentifikasi sumber-sumber penyebab yang memungkinkan timbulnya bahaya. Namun, apabila bahaya terjadi dalam kegiatan operasional laboratorium, harus diidentifasi kemungkinan pengendaliannya dan mendeteksi atau mencegah serta mengurangi terulangnya kembali. Setelah didapatkan cara pengendalian yang sangat baik utuk dapat diterapkan dengan didasarkan pada efektifitas dan efisiensi biaya, maka pengendalian tersebut harus diterapkan dan didokumentasikan serta dilakuakn pelatihan bagi personel terkait. Untuk mengetahui efektivitas pengendalian bahaya tersebut, laboratorium harus memonitor penerapannya.

Secara umum, pengendalian mutu *non-numerical* meliputi :

- audit internal
- penyeliaan
- pengendalian terhadap identitas dan keutuhan data
- pemeriksaan pemasukan data
- pemeriksaan terhadap perhitungan dan pemindahan data
- memonitor unjuk kerja peralatan dan pemeriksaan kalibrasi
- pemeriksaan terhadap monitoring lingkungan pengujian
- pemeriksaan tanggal kadaluarsa bahan habis pakai dan bahan kimia.

2. Pengendalian Mutu *Numerical*

Pengendalian mutu digunakan *numerical* untuk memonitor validitas dan reliabitas hasil pengujian dan kalibrasi. Karena itu, laboratorium harus mempunyai prosedur pengendalian mutu untuk memonittor validitas pengujian dan kalibrasi yang dilakukan. Selanjutnya, data yang dihasilkan harus direkam sehingga kecenderunagn dapat dideteksi dan apabila memungkinkan teknik statistik harus diterapkan untuk keji ulang pengujian.

Monitoring tersebut harus direncanakan dan dikaji ulang serta mencakup hal-hal sebagai berikut :

- Penggunaan secra berkala bahan acuan bersertifikat dan/atau pengendalian mutu internal dengan menggunakan bahan acuan sekunder
- Partisipasi dalam uji banding antar-laboratorium atau program uji profisiensi
- Pengulangan pengujian dengan menggunakan meetode yang sama atau berbeda
- Pengujian ulang pada barang sisa (retained items)
- Korelasi hasil untuk karakteristis yang berbeda dari suatu barang.

a. Pelaporan Hasil

Laporan pengujian merupakan suatu laporan akhir terhadap kegiatan pengujian dan didistribusikan kepada pelanggan serta disimpan sebagai arsip laboratorium. Setiap hasil pengujian yang dilakukan oleh laboratorium harus dilaporkan secara akurat, jelas, tidak menimbulkan keraguan dan objektif, serta sesuai dengan instruksi yang spesifik dalam metode pengujian.

Data yang dihasilkan oleh laboratorium harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- Objektif : data yang dihasilkan harus sesuai dengan keadaan yang sebenarnya.
- Representatif : data mewakili kumpulannya.
- Teliti dan tepat : data terjamin kebenarannya.
- Tepat waktu : sesuai dengan kebutuhan pada saat tertentu.
- Relevan : menunjang persoalan yang dihadapi.

  Laporan pengujian harus bebas dari kesalahan, perubahan atau koreksi. Perubahan terhadap laporan hasil harus dilakukan dengan dokumen baru. Laboratorium pengujian harus segera memberitahukan pelanggan secara tertulis apabila validitas hasil pengujian yang telah dilaporkan terdapat keraguan atau kesalahan.

Format laporan harus diatur agar jelas dan mudah dimengerti oleh pelanggan. Laporan pengujian berisi informasi diantaranya :

- Judul (seperti “Laporan Pengujian”)
- Nama dan alamat laboratorium penguji
- Nama dan alamat pelanggan serta nomor order pelanggan
- Uraian lengkap, kondisi, dan identifikasi contoh yang diuji
- Identifikasi metode yang digunakan
- Tanggal penerimaan contoh, tanggal pengujian contoh dan bila perlu tanggal pelaporan.
- Uraian tentang sampling, prosedur preparasi contoh dan metode penelitian yang digunakan. Juga pernyataan bahwa prosedur pengujian yang digunakan memnuhi standar nasional atau internasional
- Pernyataan ketelitian dan detail hasil yang diperoleh dan penggunaan CRM untuk memvalidasi hasil pengukuran.

- Mengungkapkan bila ada metode uji tidak baku yang digunakan atau adanya penyimpangan dari metode baku.
- Nama, jabatan, dan tanda tangan atau identifikasi dari orang yang mengesahkan laporan pengujian.
- Pernyataan bahwa laporan hasil uji tidak boleh digandakan (reproduksi) tanpa izin laboratorium penguji.

b. Dokumentasi dan Rekaman

Laboratorium harus mempunyai dan mengembangkan sistem dokumentasi dan rekaman yang sesuai dengan kebutuhannya dalam menerapkan praktek berlaboratorium yang baik (GLP). Rekaman data hasil uji, pemrosesan, serta penerbitan laporan hasil uji merupakan unsur yang sangat penting dalam keseluruhan proses pengujian. Rekaman dapat berupa *hard copy* atau media elektronik. Seluruh rekaman data yang berhubungan dengan pengujian harus mudah dibaca, didokumentasikan, dan dipelihara sedemikina rupa sehingga rekaman tersebut dapat mudah diperoleh kembali dengan cepat sampai batas waktu yang ditentukan. Selain itu, rekaman tersebut harus disimpan pada lokasi yang memadai untuk mencegah kerusakan, kehilangan dan harus dijamin aman serta rahasia. Biasanya rekaman disimpan selama 5 tahun, dan kemudian dimusnahkan sesuai prosedur yang ditetapkan oleh laboratorium.

Laboratorium harus mempunyai prosedur untuk melindungi dan mempunyai rekaman pendukung atau *back-up* yang disimpan secara elektronik atau komputerisasi serta mencegah adanya akses untuk mengubah rekaman tersebut oleh personel yang tidak berwenang.

Pencatatan atau rekaman berfungsi untuk mendokumentasikan apa yang diperoleh dari perhitungan atau pengamatan orisinil tanpa direkayasa. Pengamatan, pencatatan data dan perhitungan harus direkam pada saat pengujian dilakukan serta dapat diidentifikasi untuk pekerjaan tertentu. Untuk meminimalkan kesalahan rekaman, laboratorium harus melaksanakan usaha-usaha, antar lain :

- Meningkatkan kesadaran personel penanggung jawab melalui pelatihan atau pengarahan dari atasannya
- Pemeriksaan oleh operator yang berbeda
- Pemeriksaan perhitungan oleh orang lain
- Perhitungan kembali dengan metode yang berbeda
- Verifikasi data atau hasil perhitungan.

Namun, apabila kesalahan tetap terjadi dalam suatu rekaman, setiap kesalahan harus dicoret. Tidak diperkenankan untuk menghapus atau meghilangkan data aslinya, sehingga membuat tidak dapat terbaca. Cara yang benar adalah : nilai yang salah dicoret, dan nilai yang benar ditulis disampingnya. Karena itu, perlu dihindari penggunaan pensil yang mudah dihapus untuk perhitungan tau pencatatan data di laboratorium. Semua perubahan dalam rekaman harus ditandatangani atau diparaf oleh orang yang melakukan koreksi. Tindakan serupa harus dilakukan pada rekaman yang disimpan secara elektronik untuk mencegah hilang atau berubahnya data orisinil.

Untuk menjaga konsistensi antar sistem rekaman dan dokumentasi dengan pelaksanaannya, laboratorium harus melaksanakan prinsip dasar manajemen mutu, yaitu :

Konseptual	Implementasi
Katakan apa yang dilakukan	Dokumentasikan seluruh proses kegiatan operasional laboratorium
Lakukan apa yang dikatakan	Ikuti seluruh dokumen sistem mutu (panduan mutu, prosedur, metode, instruksi kerja, dll.yang telah dibuatnya)
Tunjukan apa yang telah dilakukan	Catat atau rekam seluruh kegiatan operasional laboratorium yang telah dilaksanakannya
Kaji ulang dan tingkatkan	Lakukan audit untuk mengetahui penerapan sistem mutu dan kinerja laboratorium
Lakukan tindakan preventif untuk menghindari ketidaksesuaian dan / atau tindakan korektif bila diperlukan	Peningkatan sistem mutu secara konsisten dan kesinambungan

Inspeksi dan Assesmen

Inspeksi dan assesmen laboratorium diperlukan untuk menjamin bahwa laboratorium memenuhi persyaratan nasional dan internasioal dalam melaksanakan GLP. Inspektor harus seorang ahli yang sesuai, berpengalaman dan memahami petunjuk dalam GLP serta independen dari laboratorium yang dinilai. Disarankan agar inspeksi dilakukan dalam setiap kurun waktu tertentu.

Inspeksi dan assesmen meliputi :

1. Personel

Inspeksi dan assesmen harus memeriksa ketenagakerjaan, diantaranya :

a. Kesesuaian kualifikasi dan pengalaman manajer laboratorium dan deputi.
b. Kecukupan program training dan pelaksaannya
c. Kualifikasi dan pengalaman personel laboratorium
d. Urain tugas kerja yang memadai untuk semua personel.

2. **Keselamatan**

   Inspeksi dan assesmen harus memeriksa hal-hal yang berkaitan dengan keselamatan :

   a. Tingkat pemenuhan laboratorium akan peraturan tentang keselamatan dan kesehatan.
   b. Penyimpanan dan penanganan bahan bahan serta pembuangan limbah kimia berbahaya.
   c. Menjaga kebersihan (house keeping) dengan baik.

d. Melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium

Kondisi Akomodasi dan Lingkungan

Laboratorium harus mempunyai ukuran, konstruksi, lokasi dan sistem pengendalian yang memadai agar dapat memenuhi tugas dan fungsi laboratorium. Desain yang tidak tepat dan fasilitas laboratorium yang kurang terawat dapat mengurangi mutu data hasil uji dan atau kalibrasi, operasional kegiatan laboratorium, kesehatan dan keselamatan, serta moralitas personel laboratorium. Pemeliharaan kondisi akomodasi dan lingkungan laboratorium yang baik, selain untuk mencapai keabsahan mutu data juga dapat melindungi personel laboratorium dari bahaya bahan kimia, kebakaran, serta bahaya lain yang timbul.

a) Pengaruh kondisi akomodasi.

Kondisi akomodasi dan lingkungan dapat berpengaruh terhadap :

Kondisi contoh yang akan diuji. Untuk menghindari kontaminasi serta perubahan kondisi contoh, maka ruangan tempat penerimaan contoh, penyimpanan, preparasi, lingkungan pengujian harus bebas dari debu, asap serta faktor-faktor lain yang berpengaruh terhadap contoh, misalnya tempertatur dan kelembaban.

Kinerja peralatan laboratorium

Debu, temperatur, kelembaban, getaran dan kestabilan tenaga listrik akan mempengaruhi peralatan laboratorium. Hendaknya peralatan yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan tersebut ditempatkan pada lokasi yang tepat

Personel laboratorium

Penerangan dan ventilasi di lingkungan pengujian harus cukup serta terhindar dari kebisingan agar memberikan rasa nyaman kepada personel yang melakukan kegiatan operasional laboratorium. Ruang yang memadai juga harus tersedia untuk melaksanakan administrasi laboratorium, misalnya pencatatan, pelaporan dan kegiatan dokumentasi.

Kesesuaian kondisi yang dipersyaratkan

Persyaratan kondisi dalam metode pengujian serta peralatan penunjang harus dipenuhi untuk mencapai keabsahan mutu data laboratorium.

e. Fasilitas Laboratorium

Pencahayaan

Untuk mendapatkan cahaya matahari yang cukup disarankan laboratorium menggunakan jendela kaca dengan luas sekitar satu pertiga (1/3) dari luas lantai ruangan. Jika bahan kimia atau peralatan instrumentasi sensitif terhadap sinar matahari langsung gedung laboratorium harus didisain sedemikian rupa untuk mengihindari penembusan langsung sinar matahari yang melebihi intensitas 70 W/m^2.

Pencahayaan dalam laboratorium yang diperlukan berkisar antara 540 – 1075 lux atau lumen per m^2 pada area kerja. Kualitas dan intensitas pencahayaan harus dikontrol agar masih dalam kisaran yang dapat diterima. Untuk itu, seluruh rekaman pencahayaan dalam laboratorium serta pengendaliannya harus dipelihara.

Ventilasi

Ventilasi harus didesain sedemikian rupa sehingga memungkinkan kontaminasi udara yang terjadi di ruang laboratorium yang disebabkan bahan kimia dapat keluar dan digantikan dengan udara segar. Sistem ventilasi laboratorium dapat dilakukan dengan menggunakan ventilasi alami dan buatan (AC). Jika digunakan AC di ruang laboratorium maka kebutuhan AC pada ruangan tersebut diperhitungkan sebesar 1 PK untuk 20 m^2. Penggunaan ventilasi alami tidak dimungkinkan pada ruang instrumentasi, ruang srteril, atau ruang timbang karena akan menyebabkan adanya debu atau pergerakan udara yang dapat mempengaruhi peralatan dan instrumentasi laboratorium. Seluruh sistem ventilasi laboratorium harus dimonitor setidak-tidaknya 3 bulan sekali jika pemantauan kontinu tidak tersedia, serta harus dievaluasi ulang ketika ada perubahan pada sistem tersebut.

Sumber Energi

Laboratorium harus memastikan bahwa sumber energi cukup untuk kegiatan operasionalnya. Selain itu, laboratorium harus mempunyai jenset untuk cadangan energi apabila sewaktu-waktu ada pemadaman aliran listrik. Jika laboratorium menggunakan peralatan instrumentasi, kestabilan arus listrik adalah hal yang perlu diperhatikan, karena arus listrik akan sangat mempengaruhi kinerja instrumentasi yang mempunyai sensitivitas

tinggi. Karena itu perlu dipertimbangkan penggunaan stabiliser, disamping *isolated ground circuit* dan instalasi listrik yang memenuhi persyaratan.

Persediaan Air

Laboratorium harus memastikan persediaan air cukup untuk kegiatan operasional, baik air destilasi, air bidestilasi, air demineralisasi, air untuk keperluan sehari-hari, misalnya air untuk pencucian peralatan gelas, cuci tangan, atau keperluan di kamar kecil.

Alat Keselamatan

Fasilitas dan peralatan keselamatan harus tersedia untuk menjamin lingkungan kerja yang bersih dan aman, diantaranya meliputi :

- almari asam dan almari pengaman
- informasi safety
- alat untuk menangani tumpahan bahan kimia
- pakaian kerja dan alat pelindung diri
- saluran air dengan kran dan shower
- saluran gas dengan kran sentral
- jaringan listrik yang dilengkapi dengan sekering atau pemutus arus
- kotak p3k yang berisi lengkap obat
- nomor telepon kantor pemadam kebakaran, rumah sakit, dan dokter
- alat pemadam kebakaran yang siap pakai dan mudah dijangkau, bak berisi pasir kering dengan sekop, selimut anti api
- fasilitas pembuangan limbah.

Meja Kerja dan Area kerja Personel Laboratorium

Meja kerja sebaiknya disesuaikan dengan kenyamanan personel dalam melakukan kegiatan operasional laboratorium. Biasanya tinggi meja kerja

sekitar 80 cm, lebar 90 cm, sedangkan panjang disesuaikan dengan ruangan yang ada. Untuk pemilihan meja laboratorium harus mempertimbangkan hal-hal sebagai berikut :

- terbuat dari bahan yang kuat
- halus dan rata
- kedap air
- tahan terhadap bahan kimia dan mudah dibersihkan

3. Tugas

Tugas 1

Penguasaan konsep	
	Jelaskan apa yang Anda ketahui pemantauan kondisi lingkungan laboratorium?
	Prosedur apa yang harus diikuti dalam melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium?
	Jelaskan apa yang Anda ketahui tentang pelaksanaan dan pemeliharaan *House keeping*?

Tugas 2

Mengenal fakta	
1	Lakukan kegiatan observasi ke laboratorium yang berada disekitar lingkungan sekolah anda untuk melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium dalam hal: tingkat penerapan konsep dasar pengelolaan laboratorium,dampak penerapan konsep dasar,
2	Observasi dilakukan secara berkelompok pada tempat yang berbeda dan di dampingi oleh guru pembimbing.
3	Rumuskan hasil observasi dan saran-saran yang diberikan untuk memperbaiki kegiatan persiapan peralatan, bahan dan contoh.
4	Kegiatan mengenal fakta ini dapat dilakukan sekaligus untuk memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP, memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025, menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP, melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium.

Tugas 3

Melakukan analisis dan sintesis	
1	Lakukan kegiatan analisis terhadap daya dukung yang tersedia di tempat praktik untuk mengetahui kesesuaian dalam melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium. Kegiatan ini dilakukan berkelompok.
2	Lakukan kegiatan sintesis terhadap hasil melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium dan hasil analisis terhadap tingkat kesesuaian daya dukung.

Tugas 4.

Menyusun dan melaksanakan rencana kerja	
1	secara berkelompok menyusun/membuat alternatif-alternatif rencana memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen mutu di laboratorium, ,.
2	Peserta didik menyusun rencana kerja/proposal memuat tentang melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium yang akan dilaksanakan
3	Merancang kriteria keberhasilan, waktu pencapaian dan jadwal kegiatan serta pembagian tugas kelompok

4. Refleksi

Petunjuk :

- Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
- Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
- Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

a. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?

....

....

....

b. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.

....

....

....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
....

....

....

4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
....

....

....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
....

....

....

5. Tes Formatif

1. Jelaskan faktor-faktor yang diperlukan suatu laboratorium untuk mencapai mutu?
2. Jelaskan prinsip-prinsip manajemen mutu?
3. Jelaskan prinsip -prinsip GLP?
4. Jelaskan identifikasi aplikasi praktis dari GLP di Laboratorium?
5. Jelaskan identifikasi keterkaitan antara prinsip-prinsip manajemen mutu?
6. Jelaskan kaji ulang elemen-elemen ISO 17025?
7. Jelaskan secara singkat elemen-elemen ISO 17025?
8. Jelaskan perbedaan antara ISO dan 17025 dengan GLP?
9. Jelaskan keterkaitan antara ISO 17025 dengan prinsip-prinsip manajemen mutu?

10. Jelaskan daftar isian (check list) yang digunakan untuk melakukan penilaian?
11. Jelaskan cara memantau kondisi laboratorium

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Skala penilaian sikap dibuat dengan rentang antara 1 s.d 4.

1 = BT (belum tampak) *jika* sama sekali tidak menunjukkan usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas

2 = MT (mulai tampak) *jika* menunjukkan sudah ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas tetapi masih sedikit dan belum ajeg/konsisten

3 = MB (mulai berkembang) *jika* menunjukkan ada usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas yang cukup sering dan mulai ajeg/konsisten

4 = MK (membudaya) *jika* menunjukkan adanya usaha sungguh-sungguh dalam menyelesaikan tugas secara terus-menerus dan ajeg/konsisten

No.	Sikap	Religius				Disiplin				Tanggug jawab				Peduli				Responsif				Teliti				Jujur				Santun			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Mengamati																																
2	Menanya																																
3	Mengeksplorasi																																
4	Mengasosiasikan																																
5	Mengkomunikasikan																																

2. Penilaian Pengetahuan

a. Jelaskan faktor-faktor yang diperlukan suatu laboratorium untuk mencapai mutu?
b. Jelaskan prinsip-prinsip manajemen mutu?
c. Jelaskan prinsip -prinsip GLP?
d. Jelaskan identifikasi aplikasi praktis dari GLP di Laboratorium?
e. Jelaskan identifikasi keterkaitan antara prinsip-prinsip manajemen mutu?
f. Jelaskan kaji ulang elemen-elemen ISO 17025?
g. Jelaskan secara singkat elemen-elemen ISO 17025?
h. Jelaskan perbedaan antara ISO dan 17025 dengan GLP?
i. Jelaskan keterkaitan antara ISO 17025 dengan prinsip-prinsip manajemen mutu?
j. Jelaskan daftar isian (check list) yang digunakan untuk melakukan penilaian?
k. Jelaskan cara memantau kondisi laboratorium

3. Penilaian Keterampilan

NO	ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
		1	2	3
1.	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen Mutu di Laboratorium			
2.	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP			
3.	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025			
4.	Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP			
5.	Melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium			

Rubrik :

ASPEK YANG DINILAI	PENILAIAN		
	1	2	3
Memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen Mutu di Laboratorium	Tidak memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen Mutu di Laboratorium	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen Mutu di Laboratorium, tetapi masih terdapat kesalahan	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman tentang manajemen Mutu di Laboratorium dengan benar
Memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP	Tidak Memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP, tetapi masih terdapat kesalahan	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman GLP dengan benar
Memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025	Tidak Memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025, tetapi masih terdapat kesalahan	Memperagakan pengetahuan dan pemahaman ISO 17025 dengan benar
Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP	Tidak Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP	Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP, tetapi masih terdapat kesalahan	Menilai tempat bekerja dan kesesuaiannya dengan panduan GLP dengan benar
Melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium	Tidak melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium	Melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium,tetapi masih terdapat kesalahan	Melaksanakan pemantauan kondisi lingkungan laboratorium dengan benar

DAFTAR PUSTAKA

[Warta Kimia Analitik], (2005), *Praktek Berlaboratorium Yang Baik (I)*, Edisi Februari, LIPI, Bandung.

-----, (2005), *Praktek Berlaboratorium Yang Baik (II)*, Edisi Agustus, LIPI, Bandung.

Afrianto,Eddy, Sahirman,Ari Widodo, dkk.,(2008), *Pengawasan Mutu Bahan / Produk Pangan,*Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta

Anonim, (2008), *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar, Laboratorium Mikrobiologi*, Fakultas Biologi, UNSUD, Purwokerto.

Baedhowie, M dan Panggonowati, Sri, (1982), *Petunjuk Praktek Pengawasan Mutu Hasil Pertanian*. Depdikbud, Jakarta.

Day R.A dan Underwood A.L., (2002), *Analisis Kimia Kuantitatif edisi keenam*. Sopyan Iis, penerjemah. Jakarta : Erlangga, Terjemahan dari : *Quantitative Analilysis Sixth Edition*.

Hadi, Anwar, (2000), *Sistem Manajemen Mutu Laboratorium*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

Keenan, A. Hadyana Pudjaatmaja, PH. CL, (1992), *Kimia Untuk Universitas*, Jilid 1, Erlangga, Bandung.

Legowo, Anang mohamad dan Nurwantoro, (2004), Analisis Pangan. Universitas diponegoro, Semarang

Pearson, *Sampling and Analiisys Methods for Food*.

Pedoman BSN No. 2, (1995), *Istilah Umum dan Definisi yang Berhubungan dengan Standarisasi dan Kegiatan yang Terkai.* Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.

Pedoman BSN No. 503, (2000), *Kriteria Petugas Pengambil Contoh* Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.

Pedoman BSN. No. 104, (1992), *Pedoman untuk Penyajian Hasil Uji*, Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.

Petrucci, H. Ralph, Suminar,(1989), *Kimia Dasar*, Edisi Ke-4 Jilid 1, Erlangga, Jakarta.

SNI 01-2891-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*.

SNI 19-0429-1998, *Petunjuk Pengambilan Contoh Cairan dan Padatan*.

SNI 19-0429-1998, *Petunjuk Pengambilan Contoh Cairan dan Semi Padat*.

Soewarno T. Soekarto, (1990), *Dasar-dasar Pengawasan dan Standarisasi Mutu Pangan*, Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, IPB.

Sumarsih, Sri, 2003, *Diktat Kuliah Mikrobiologi Dasar*, Fakultas Pertanian UPN "Veteran", Jogjakarta

Vogel, (1985), *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semi Mikro*, Edisi V, diterjemahkan oleh: Setiono & Pudjaatmaka, PT Kalman Media Pustaka, Jakarta

Winarno, F.G, 1986, *Kimia Pangan dan Gizi.* PT Gramedia. Jakarta

http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde_ntrtnhlth_isoflvn.php diakses pada jam 13.00, tanggal 15 Nopember 2013

http://www.madualami.com/artikel.htm diakses pada jam 13.00, tanggal 15 Nopember 2013

http://organisasi.org/macam_dan_jenis_garam_mineral_yang_dibutuhkan_tubuh_manusia_biologi diakses pada jam 13.00, tanggal 15 Nopember 2013

www.vivanews.com diakses pada jam 13.00, tanggal 15 Nopember 2013

http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid997040626,87216, diakses pada jam 13.00, tanggal 15 Nopember 2013

http://sahri.ohlog.com/larutan-elektrolit-dan-non-elektrolit.cat3416.html diakses pada jam 13.00, tanggal 15 Nopember 2013